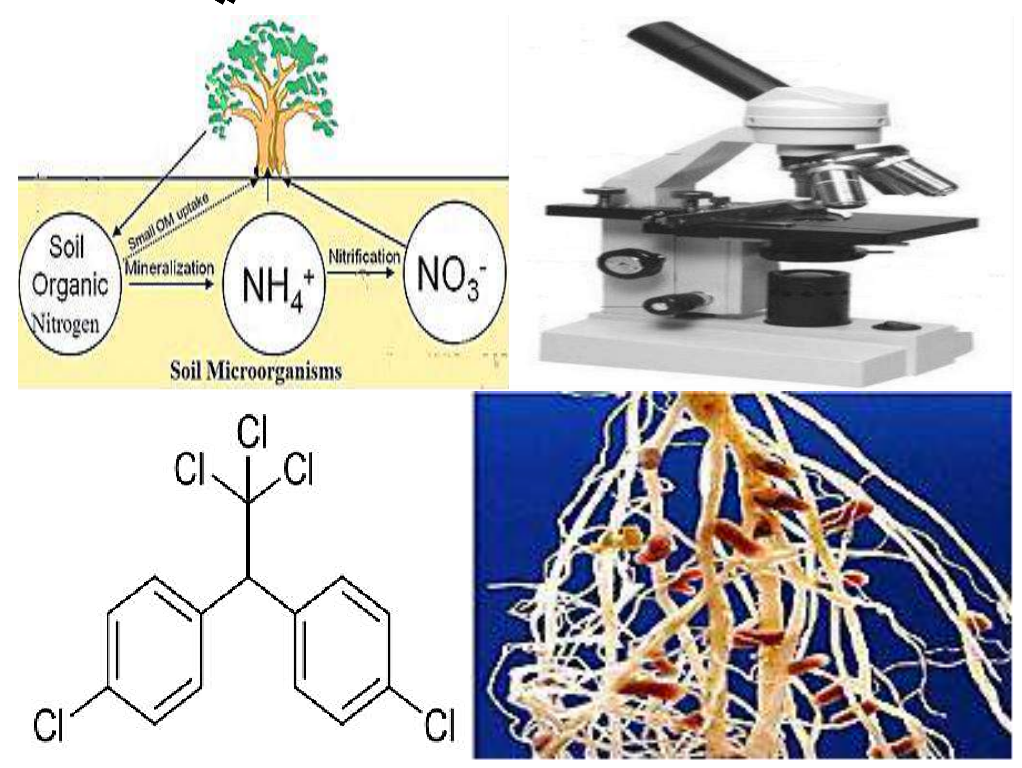
ميكروبيولوجيا الأراضي



تأليف

أ.د/ راشد عبدالفتاح زغلول	**أ.د/ حامد السيد أبوعلى**
أستاذ الميكروبيولوجيا الزراعية	**أستاذ الميكروبيولوجيا الزراعية**
كلية الزراعة –جامعة بنها	**كلية الزراعة –جامعة بنها**

مراجعة

أ.د/ إحسان أحمد حنفي

أستاذ الميكروبيولوجيا الزراعية

كلية الزراعة –جامعة بنها

٢٠١٨ م

ميكروبيولوجيا الأراضي

تـــأليـــــــف

أ.د/ راشد عبدالفتاح زغلول   أ.د/ حامد السيد ابوعلي

مراجعة

أ.د/ إحسان أحمد حنفي

عدد صفحات الكتاب (٣٥٢ صفحة)

رقم الإيداع بدار الكتب بالقاهرة

٢٠١٤/٥٢٨٧

الترقيم الدولى للكتاب

٩٧٨-٩٧٧-٩٠-١٥٢٨-٦

مطبعة مركز الهدي للكمبيوتر والتصوير- أمام كلية الطب البيطري بمشتهر

المحتويات

المحتويات

المحتويات

المحتويات

المحتويات

المقدمة

التربة الزراعية ماهى إلا نتيجة مجموعة من التفاعلات الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية بين المادة الأم والعوامل المناخية والكائنات الحية الموجودة بالتربة، لذلك فإذا نظرنا إلي التربة نجد أنها ليست وسط مصمت نتج بسبب عوامل التعرية للصخور وإنما نجد أن التربة وسط بيئي للكائنات الحية يتميز بديناميكية عالية من حيث احتوائه علي كائنات حية دقيقة وغير دقيقة قادرة علي القيام بالعديد من التفاعلات البيولوجية والتي تؤدي في النهاية إلي رفع خصوبة التربة.

ومن الحقائق العلمية المؤكدة أنه بدون الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في التربة لانعدمت الحياة علي سطح كوكب الأرض، ومن المعروف جيداً أن الكائنات الحية الدقيقة تتواجد في التربة مرتبطة بحبيباتها حيث تقوم بالعديد من العمليات الميكروبيولوجية المفيدة للتربة والنبات مثل معدنة المواد العضوية التي يترتب عليها تيسر العناصر الغذائية اللازمة لتغذية النبات ، تثبيت أزوت الهواء الجوي ، القدرة علي إفراز الكثير من المواد المشجعة للنمو والحفاظ علي استمرارية دورات العناصر في الطبيعة وقدرتها علي التخلص من الملوثات البيئية المختلفة.

أيضاً قد يحدث تنافس بين ميكروبات التربة والنباتات علي العناصر الغذائية الميسرة في التربة ، كذلك تقوم بعض الميكروبات بإفراز بعض المواد السامة التي تؤثر علي نمو النبات، لذلك فانه يتوجب علينا فهم العلاقات المختلفة بين الميكروبات والتربة والنبات بهدف توفير الظروف المثلى لنمو النبات للحصول علي أعلى إنتاجية.

ويعتبر علم ميكروبيولوجيا التربة من أهم العلوم التى تهتم بدراسة العلاقات المتبادلة بين الكائنات الحية الدقيقة والتربة والنبات، ويرتبط هذا العلم ببعض العلوم الأخرى مثل علم الكيمياء الحيوية وعلوم البيئة وعلم كيمياء الأراضي ، ومن المعروف جيداً أن علم ميكروبيولوجيا الأراضي يعتبر من العلوم الحديثة التي بدأت دراستها في أوائل القرن العشرين، ولكن بسبب كثرة الأبحاث والدراسات المتعلقة بهذا العلم فقد ازدهر بسرعة كبيرة حيث أوضحت نتائج الأبحاث في هذا المجال طرق

التعرف علي أنواع وأهمية الميكروبات التي تعيش في التربة، كذلك تم وضع وتحديد الأسس التي من خلالها يتم تحقيق الاستفادة القصوى من ميكروبات التربة النافعة وكيفية الحد أو التخلص من الأثار الضارة لهذه الميكروبات.

ولقد حاولنا فى هذا الكتاب تقديم رؤية شامله عن المعلومات الأساسية لدور الكائنات الحية الدقيقة فى خصوبة التربة والتى تفيد المهتمين بدراسة علم ميكروبيولوجيا الأراضى سواء فى الجامعات أو المعاهد البحثية المختلفة، ولقد حرصنا علي عرض المعلومات بسهولة ويسر وقد تم ذلك من خلال الاستعانة بمجموعة من المراجع العربية والإنجليزية والكتاب مزود بعدد وافر من الأشكال والرسومات التوضيحية لمساعدة القارئ علي فهم الموضوعات المختلفة المتعلقة بهذا العلم، ولقد روعي أن يلم القارئ بما هو حديث في هذا العلم لكي نحقق ما يتطلع إليه وطننا العزيز مصر من تقدم ورقي وإننا لندين بالفضل كل الفضل لله سبحانه وتعالى أولاً على أن وفقنا فى إتمام هذا العمل المتواضع ثم للذين تعلمنا منهم وزودونا بخبراتهم .

ونذكر بكل الإجلال والاحترام من رحل منهم عنا كما نعترف بالجميل والعرفان لمن أخذنا عنهم العلم، وندعو الله أن نكون قد وفقنا في إعداد هذا الكتاب لكي يكون إضافة إلي المكتبة العربية لنشر العلم بين المهتمين بدراسة ميكروبيولوجيا الأراضى، ونسأل الله أن يفيد بهذا الجهد المتواضع كل من يعمل في مجال الميكروبيولوجيا الزراعية فى الوطن العربى.

المؤلفان

(الباب الأول- الفصل الأول)
نظرة عامة علي أحياء التربة الدقيقة

تعريف التربة

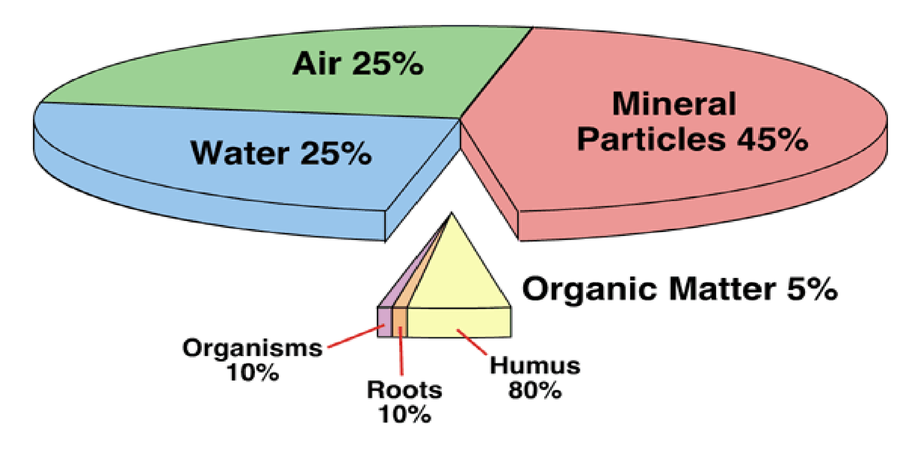
هي الطبقة السطحية من الأرض والتي تكونت عبر ملايين السنين بفعل العوامل المناخية المختلفة ويبلغ سمكها عدة سنتيمترات ومكونات التربة تعتمد على مكونات الماء والهواء كذلك تركيب الماء والهواء يعتمد على التربة ولذلك تعتبر التربة أحد مكونات الدورات الكيميائية لبيئة كوكب الأرض.

مكونات التربة الزراعية

تتكون التربة من خمسة مكونات رئيسية هي المادة المعدنية، المادة العضوية (ويمثلان الطور الصلب فى التربة)، محلول التربة (ويمثل الطور السائل)، الهواء الأرضي (ويمثل الطور الغازى) والكائنات الحية (وتمثل الطور الحيوى)، ولا تتواجد كل من هذه المكونات بكميات ثابتة في جميع أنواع الأراضي، بل تختلف باختلاف موقع التربة، ويلاحظ في الموقع الواحد أن كمية المادة المعدنية والمادة العضوية تكاد تكون ثابتة، بينما تتغير كمية كل من الماء والهواء الأرضي في التربة، وهما يشغلان حيزاً من التربة يصل إلي نصف حجمها تقريباً وهو ما يعرف بالفراغات البينية، والجزء المعدني الذي يشغل حيزاً يقل قليلاً عن نصف حجم التربة ينشأ عن تجوية الصخور وتحللها.

وبمرور الوقت يصبح هذا الجزء مختلفا عن الصخر الأصلي الذي تكون منه، أما المادة العضوية فإنها عادة ما تمثل ٣-٦٪ من الحجم الكلي للتربة، ونجد أن الكائنات الحية في التربة بما تشتمل عليه من حيوانات صغيرة وكائنات دقيقة تشغل حيزاً يقل عن ١٪ من الحجم الكلي إلا أن وجودها يعتبر دون أدني شك عاملا ضروريا لإنتاج المحاصيل وخصوبة التربة ، ونتيجة لتأثير الجزء المعدني في التربة علي معدل تحول العناصر الغذائية إلي الصورة الميسرة،

وعلي تهوية التربة ومدي احتفاظها بالماء فإن له تأثيراً واضحا علي الميكروبات التي تعيش فيها.



شكل١ (١)-١: توزيع المكونات فى التربة المثالية

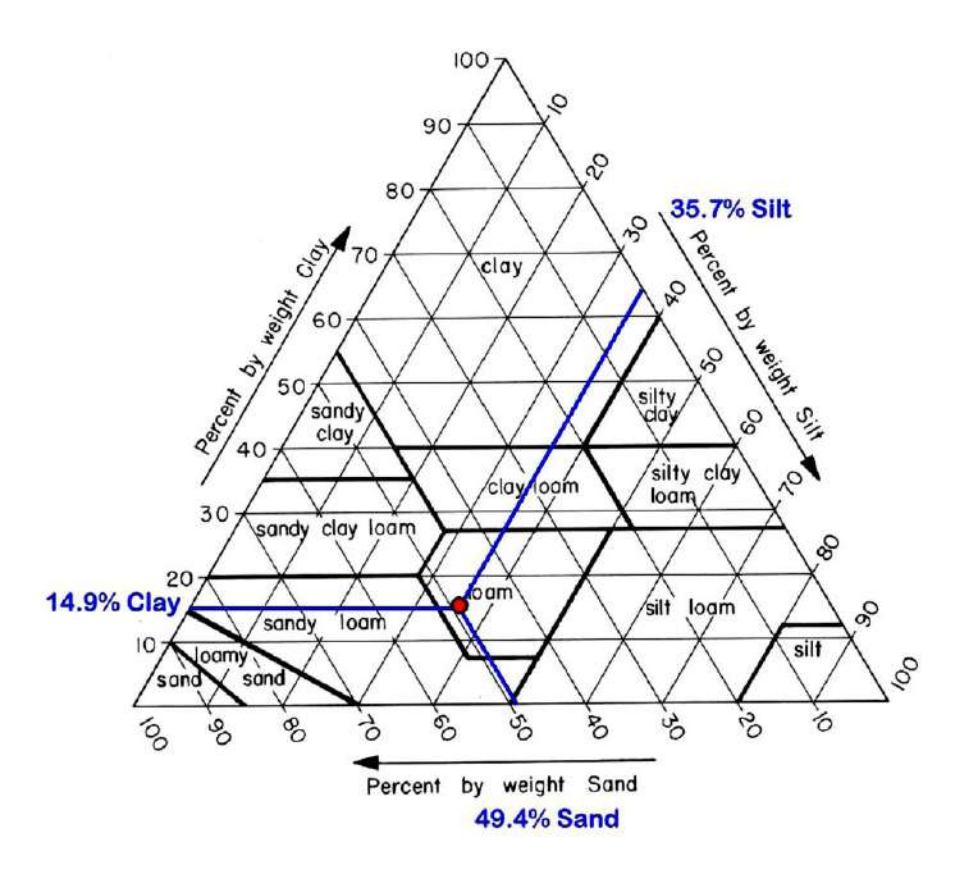
أولا:الجزء المعدني Mineral part

ويشمل الجزء المعدني حبيبات تختلف في أحجامها حيث تتراوح بين تلك التي يمكن تمييزها بالعين المجردة، وحبيبات الطين التي لا يمكن تمييزها إلا تحت الميكروسكوب، ومن المعروف أن الخواص الكيميائية للحبيبات وكذا نشاطها الفعال يرتبط مباشرة بمساحة سطوحها النوعية، لذلك فإنه من المفترض أن يكون لوجود حبيبات الطين في التربة وضعا متميزاً، وعلي ذلك فإن مجموعة حبيبات الطين هي الأكثر فعالية من حيث التأثير علي الكائنات الدقيقة، ويعتبر السلت بالمقارنة أقل تأثيراً علي الخواص الفيزيائية والكيميائية والحيوية للتربة، أما الرمل ذو الحبيبات الأكبر نسبيا في حجمها والمتميزة بانخفاض مساحة سطوحها فهو الأقل تأثيراً في هذا المجال، ولكن لوجود الرمل في التربة دور هام من حيث تأثيره علي حركة الهواء والماء في التربة.

قوام التربة Soil texture

قوام التربة هو اصطلاح يعبر عن مدى نعومة أو خشونة حبيبات التربة والتى تعتبر صفة هامة للتربة، وهذا تعريف وصفى لقوام التربة، أما التعريف الكمى فقوام التربة يعبر عن النسب المئوية لمجاميع الحبيبات الأولية فى التربة،ومعرفة قوام التربة مهم من الناحية العملية حيث انه يعطى فكرة عن بعض الصفات الفيزيائية للتربة مثل قدرة التربة للاحتفاظ بالماء , سرعة مرور الماء فى التربة،

تهوية التربة، قدرة التربة على الاحتفاظ بالعناصر الغذائية والسعة التبادلية الكاتيونية للتربة، أما بالنسبة للتربة التي تتكون من نسب متقاربة من الرمل والسلت والطين (تربة طميية) مسمي تربة متوسطة القوام، والجدول التالى يوضح أقسام حبيبات التربة تبعا لأحجامها حسب نظم التقسيم المختلفة، ولكي نستطيع معرفة قوام التربة لابد أولا من تقدير التوزيع النسبي لمجاميع الحبيبات الأولية في التربة أو التحليل الميكانيكي Mechanical analysis مع توقيع هذه النسب في مثلث القوام Texture triangle شكل١ (١)٢.



شكل١ (١)–٢: مثلث القوام

ويطلق علي التربة الطينية مسمي تربة ناعمة القوام بينما يطلق علي التربة الرملية مسمي تربة خشنة القوام .

جدول (١–١): التقسيم الخاص بمجاميع الحبيبات الأولية

الحبيبات الأولية	التقسيم الأمريكي (تقسيم وزارة الزراعة الأمريكية)		التقسيم الدولي (تقسيم الجمعية الدولية لعلوم التربة)	
	القسم	قطر الحبيبات مم	القسم	قطر الحبيبات مم
الرمل	رمل خشن جداً	١ – ٢	رمل خشن	٢ – ٠,٢
	رمل خشن	١ – ٠,٥		
	رمل متوسط	٠,٥ – ٠,٢٥	رمل ناعم	٠,٢ – ٠,٠٢
	رمل ناعم	٠,٢٥ – ٠,١		
	رمل ناعم جداً	٠,١ – ٠,٠٥		
السلت	سلت خشن	٠,٠٥ – ٠,٠٢	سلت	٠,٠٢ – ٠,٠٠٢
	سلت ناعم	٠,٠٢ – ٠,٠٠٢		
الطين	طين	أقل من ٠,٠٠٢	طين	أقل من ٠,٠٠٢

التبادل الأيونى Ion exchange

تعد هذه الظاهرة من أهم التفاعلات التي تحصل في الطبيعة بعد عملية التمثيل الضوئي للنباتات الخضراء (وإن كان هناك بعض الإشارات تقول أن ثانى اكبر

عملية هى عملية تثبيت النيتروجين)، والتبادل الأيونى هو عملية دخول الأيونات (كاتيونات وأنيونات) من المحلول الذي يحيط بالدقائق الغروية لتدمص على سطوح هذه الغرويات وبمقادير مكافئة لما يزاح عنها من أيونات إلى المحلول الخارجي المحيط، (أي هناك عمليتان متعاكستان تحدثان في أن واحد معاً) ويمكن أن يكون هذا التبادل كاتيونياً أو أنيونياً، مع سيادة النوع الأول نظراً لسيادة الشحنات الكهروسالبة لسطوح حبيبات التربة، وتحافظ غرويات التربة عموماً عند حدوث التبادل الأيوني على تعادلها الكهربائي على الدوام، وبفضل هذه العملية يصبح ممكناً للتربة أن تحتجز كثيراً من العناصر الغذائية الضرورية والتي تبقى في متناول النبات.

وتعتبر السعة التبادلية الكاتيونية Cation exchange capacity أحد الخواص بالغة الأهمية في التربة وهي مقياس يعبر عن قدرة حبيبات الطين والغرويات العضوية علي ادمصاص الكاتيونات وهى الأيونات موجبة الشحنة مثل Mg^{++}, Ca^{++},K^{+}, NH_4^{+} واستخلاصها من محاليل التربة لتلتصق على حبيبات الطين ذات الشحنة السالبة، ويعبر عنها بعدد مللي مكافئات الكاتيونات التي تدمص علي ١٠٠ جرام من التربة، وتتوقف سعة التبادل الكاتيوني علي محتوى التربة من الطين والمادة العضوية من حيث الكم والنوع ، فالأراضى الثقيلة القوام (الطينية) تتميز بقدرة عالية علي التبادل الكاتيوني نتيجة احتوائها علي نسبة عالية من الطين والمادة العضوية بعكس الأراضى الخفيفة القوام (الرملية).

ثانيا:الجزء العضوي (المادة العضوية) Organic matter

تنشأ المكونات العضوية فى التربة من مخلفات وأشلاء الكائنات الحية التي تستوطن في ظاهر التربة وباطنها، وتشتمل على الأحياء الدقيقة Microorganisms من بكتيريا وفطريات وطحالب وأشنات وحيوانات أولية، وحشرات وعناكب ودودة الأرض والرخويات وغيرها وصولاً إلى حيوانات التربة والنباتات الدنيا والراقية، علاوة على مخلفات الحيوانات الزراعية والإنسان، ورفاتها كلها، وتخضع هذه المواد برمتها لجملة من العمليات الحيوية التي تقود في نهاية المطاف إلى تكون مواد عضوية ذات طبيعة غروية معقدة التركيب غير متجانسة يطلق عليها الدبالHumus.

والدبال هو نتاج محصلة عمليتين حيويتين تقوم بهما ميكروبات التربة هما تحليل المواد العضوية، وتخليق مركبات عضوية جديدة، حيث تتعرض المخلفات العضوية للتحلل الميكروبى، مما يؤدي إلي اختفاء معالمها الأصلية ويصاحب ذلك تكوين خلايا ميكروبية جديدة بالإضافة إلي تكوين مجموعات متباينة من المركبات العضوية التي تخضع بدورها لعمليات تحلل أخرى حتى تتحول في النهاية إلي مركبات عضوية معقدة التركيب ذات لون بنى أو أسود، ويوجد الدبال في التربة في حالة ديناميكية، حيث يتعرض بصفة دائمة لمهاجمة الميكروبات، وفي نفس الوقت تقوم كائنات التربة بتخليقه مرة أخرى من المخلفات النباتية. ويعتبر الدبال مخزنا رئيسيا للعناصر الغذائية بالنسبة للكائنات الحية الدقيقة في التربة، وذلك لاحتوائه علي كل من الكربون والنيتروجين العضويين، ونظراً لأن تكوين الدبال تشترك فيه بصفة أساسية عمليات التحول الغذائى للميكروبات، كما أنه في نفس الوقت مصدر لغذائها فإنه من الطبيعي أن يصبح له أهمية خاصة من الناحية الميكروبيولوجية. ونسبة الكربون إلى النتروجين C/N فى الدبال تتغير تبعا لعوامل عدة منها المناخية والأرضية والحيوية الخاصة بالموقع نفسه، ويتراوح محتوى الترب الطبيعية من المادة العضوية أو الدبال بين الصفر في الترب الرملية والصحراوية شديدة الجفاف وأكثر من ٩٠ ٪ في تربة المستنقعات أما في التربة الزراعية فتقع هذه النسبة بين ١ و١٠٪ تبعاً لنوع الغطاء النباتي وطبيعة استعمال الأرض واستدامة التراكيب المحصولية، وعلى الرغم من ضألة نسبة المادة العضوية في التربة الزراعية عموماً، فإن لها دوراً حاسماً في خصائص التربة كلها، بل في استدامة النظم المحصولية على المدى الطويل، وهذا ما تنادي به حالياً المنظمات الدولية المعنية بالزراعة والبيئة والمناخ على حد سواء.

ثالثا:الماء الأرضى أو المحلول الأرضى Soil solution

يعتبر الماء أهم مقومات الحياة على سطح كوكب الأرض ويؤلف جسر الاتصال في منظومة (التربة ـ الماء ـ النبات)، ويصنف ماء التربة إلى ثلاثة أشكال على النحو الأتي :

أ . الماء الهيجروسكوبي Hygroscopic water يحيط بحبيبات التربة الناعمة التي تبدي سطحاً نوعياً كبيراً على شكل أغشية مائية، ويُمتَزُّ بقوة كبيرة جداً، وهو ماء غير متحرك وغير مفيد للنبات والميكروبات.

ب . الماء الأسموزى او الشعري Capillary water ويميز منه نوعان: ماء شعري غير قابل للإفادة ويشغل الفراغات الشعرية التي لا تتجاوز أبعادها ٠,٢ ميكروميتر، أما الثاني فيعد المصدر الرئيسي للتغذية المائية في التربة ويملأ الفراغات الشعرية التي تراوح أبعادها بين ٠,٢ و١٠ ميكروميتر وعن طريقه تنتقل العناصر الغذائية إلي جذور النباتات ويسهل امتصاصها ، كما أنه ضرورى لبناء خلايا الكائنات الحية.

ج . ماء الجاذبية الأرضية Gravity water هو الماء الزائد على الماء الشعري، ويشغل الفراغات التي تزيد أبعادها على ١٠ ميكرومتر، وهو ماء متحرك وغير متاح للنبات والميكروبات.

ثوابت مائية هامة

أ . السعة التشبعية :Saturation capacity ويطلق عليها أيضاً السعة المائية العظمى أو سعة حجز الماء Water holding capacity، وهي أكبر كمية ماء يمكن أن تحتجزها التربة بعد طرد الهواء من فراغاتها.

ب . السعة الحقلية :Field capacity وتمثل المحتوى الرطوبي الذي تحتفظ به التربة بعد صرف (رشح) الماء الزائد بفعل الجاذبية الأرضية وتباطؤ معدل الرشح إلى حد كبير، ويقدر الزمن اللازم لذلك بحدود ٢٤ إلى٧٢ ساعة بعد ريٍ كافٍ، وتعد السعة الحقلية من أهم الثوابت المائية لدخولها في حساب الحد الأقصى لكمية المياه الواجب إضافتها للتربة في الرية الواحدة لمحصول معين (حساب المقننات المائية)، وتقدر القوة التي تحتفظ التربة بمائها عند السعة الحقلية بين ٠,١ و١,٠ ضغط جوي حسب نوع التربة.

ج . معامل الذبول الدائم :Permanent wilting coefficient يقصد به المحتوى الرطوبي عند نقطة الذبول الدائم التي تصير عندها النباتات المزروعة غير قادرة على استعادة حيويتها ونموها إثر وضعها في جو مشبع ببخار الماء، يكون

عجز النبات عن امتصاص الماء من التربة تاماً، ويعد هذا المعامل من الثوابت المائية المهمة لأنه يمثل مخزون التربة المائي غير المتيسر المتاح.

رابعا:الهواء الأرضى Soil air

ويمثل المسامية ويشغل حوالى ٥٠٪ من الحجم الكلى للأرض وهي تملأ بالماء أو الهواء حسب نسبة الرطوبة أى كلما زادت الرطوبة قلت تهوية الأرض والعكس صحيح ، ويختلف الهواء الأرضي عن الهواء العادي حيث تزداد فيه نسبة ثانى أكسيد الكربون CO_2 وبخار الماء ويقل محتواه من الأكسجين نتيجة تنفس الجذور والكائنات الحية كما يحتوى علي بعض الأمونيا والميثان وذلك في الأراضي سيئة التهوية. كما يؤثر الهواء الأراضي في عمليات الأكسدة للمواد العضوية ففي التربة الجيدة التهوية تكون الأكسدة كاملة والناتج هو عبارة عن ثاني أكسيد الكربون والأمونيا ، بينما في التربة السيئة التهوية تسود عمليات التخمر ونواتجها من أحماض عضوية وكحولات وأيدروجين وميثان مما ينعكس علي زيادة حموضة التربة.

خامسا:الكائنات الحية الدقيقة

من الناحية الميكروبيولوجية يمكن النظر إلى التربة باعتبارها وسط كبير دائم الحركة بالنسبة للأحياء التي تعيش فيه، وهو أيضا المكان الطبيعى الذي تتحول فيه العناصر الغذائية بفعل الكائنات الحية الدقيقة إلى الصورة الملائمة لتغذية النبات.

وتحتوى التربة علي سبعة مجموعات رئيسية من الكائنات الحية الدقيقة هي البكتريا – الأكتينوبكتريا – الفطريات – الخمائر – الفيروسات – الطحالب – البروتوزوا، وإلى جانب هذه المجموعات فإن التربة كنظام بيئى Ecosystem تحتوى في نفس الوقت كما سبق علي مركبات معدنية وعضوية، وتحتل البكتريا كمجموعة رئيسية من كائنات التربة مكاناً بارزاً حيث أنها تمثل أكثر المجموعات تواجداً في التربة وتتفوق في أعدادها علي أعداد باقى المجاميع الأخرى.

أولاً:البكتريا Bacteria

تحتوى التربة علي أعداد كبيرة من البكتريا ، والخلية البكتيرية صغيرة في الحجم، نادرا ما يتجاوز طولها عدة ميكرومترات، فإذا ما قورنت بالخيوط البالغة الاستطالة أو بالخلايا الكبيرة الحجم للكائنات الدقيقة الأخرى ، فإن مجموع كتلة الخلايا البكتيرية يمكن أن يمثل أقل من نصف الوزن الكلي لمجموع الخلايا الميكروبية في التربة ، وتتحدد سيادة النوع الواحد من الميكروبات تبعا لظروف البيئة السائدة، فالبكتريا والفطريات تصبح لها السيادة في التربة علي باقى الكائنات الحية الدقيقة الأخرى عندما تتوفر ظروف مناسبة من التهوية ، أما تحت ظروف نقص أو غياب الأكسجين فإن البكتريا تكون هي المسئولة عن التغيرات الحيوية والكيميائية ، وتتميز البكتريا علي باقى مجاميع الكائنات الحية الدقيقة التي تشترك معها في نفس العمليات الحيوية في التربة بسرعة تكاثر خلاياها وقدرتها الفائقة في تحليل أنواع كثيرة من المواد العضوية.

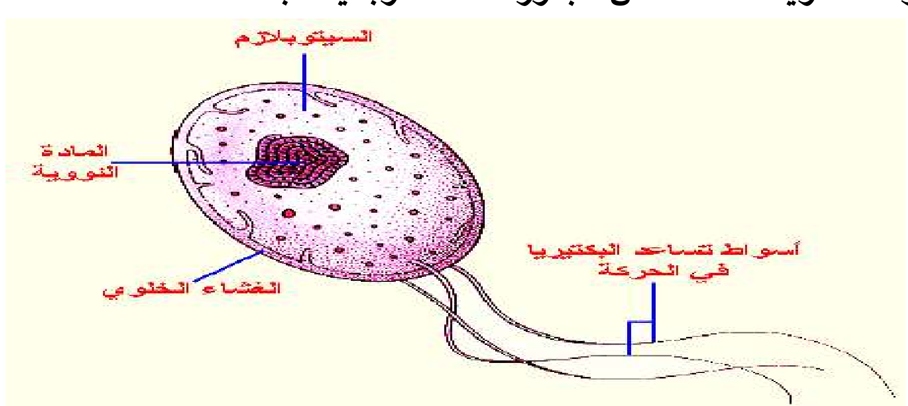
ولقد وضعت أنواع بكتريا التربة في قسمين رئيسيين: الأول يشمل الأنواع المتأصلة في التربة (Indigenous, Autochthonous) ، والثاني يشمل الأنواع الدخيلة علي التربة (Invaders, Allochthonous) ، فالأنواع التابعة للقسم الأول تستوطن التربة بصفة طبيعية ودائمة، حيث تتكاثر فيها وتساهم بفاعلية كبيرة في الأنشطة الكيميائية الحيوية بها، وهي تتميز بمقدرتها علي تحمل ومقاومة الظروف غير الملائمة حيث يمكنها أن تظل ساكنة دون نشاط لفترات طويلة.

أما المجموعة الثانية فهي تضم أنواع البكتريا التي تصل إلي التربة مع مياه الأمطار، أو عن طريق دخول الأنسجة المريضة، أو مخلفات الإنسان والحيوان إلي التربة وكذلك اللقاحات والمخصبات الحيوية، وهذه الأنواع تظل حية لفترة من الوقت إما في حالة سكون أو تنمو لفترات قصيرة، ولكنها لا تشارك بطريقة فعالة في عمليات تحويل العناصر في التربة، كما لا تشترك في أى نوع من العلاقات ذات الأثر المتبادل مع غيرها من كائنات التربة الدقيقة.

ومن النادر أن توجد البكتريا حرة في محلول التربة ، لأن معظم الخلايا تلتصق علي سطح حبيبات الطين والدبال ، ومن المحتمل أن يكون جزء كبير من

ميكروبات التربة موجودا علي هيئة مجموعات منفصلة تتكاثر في المواقع الدقيقة المناسبة لها من التربة، كما يمكن أيضاً أن توجد علي حالة كتل متميزة مصاحبة للإفرازات المخاطية للبكتريا، وتنجذب كل من الخلايا البكتيرية وغرويات التربة وحبيبات الطين إلي بعضها البعض بتأثير التجاذب الإلكتروستاتيكي للتربة علي خلايا البكتريا وهذا يؤدي إلي احتجاز معظم الخلايا البكتيرية في التربة وقلة الأعداد التي تنتقل مع الماء إلي أسفل ، وكلما زادت خاصية الادمصاص هذه كلما اثر ذلك علي الأنشطة الكيميائية الحيوية للبكتريا.

ويؤثر نوع التربة والمعاملات الزراعية بها علي أنواع وأعداد البكتريا ، علي سبيل المثال فإن أعداد البكتريا في الأراضي المنزرعة تفوق مثيلاتها في الأراضي الزراعية غير المزروعة، وذلك ناتج عن زيادة كثافة الجذور وزيادة معدل إمداد التربة بالمواد العضوية المتخلفة عن الجذور المتحللة وبقايا النبات.



شكل ١(١)-٣: تركيب الخلية البكتيرية

أهم أجناس البكتيريا في التربة الزراعية

يمكن تقسيم أنواع البكتيريا إلي مجاميع خاصة تبعاً لصفاتها المورفولوجية، ونظرا للتباين الكبير في أعداد وأنواع بكتريا التربة فإنه يصعب وصف جميع أنواعها أو تحديد تقسيم شامل يضم جميع السلالات وحتى عمل توصيف لبكتريا التربة علي أساس صفاتها المورفولوجية يعتبر أمراً صعباً ، لأن كثيراً من الأنواع السائدة في التربة تتعدد أشكالها المزرعية تبعا لاختلاف عمر الخلايا ولمكونات البيئات الغذائية النامية عليها.

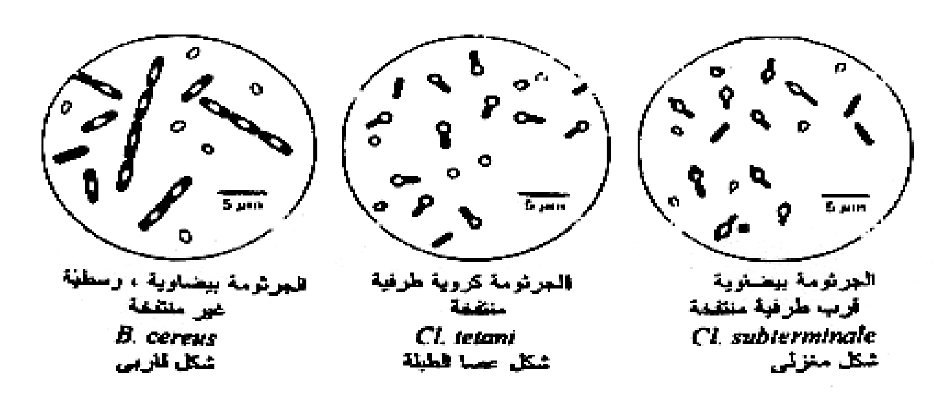
وأهم الأجناس البكتيرية التي يكثر وجودها في التربة أو تلك التي لها وضع خاص متميز هى التي تنتمي إلي الأجناس التالية :

Agrobacterium, Arthrobacter, Bacillus, Brevibacterium, Clostridium, Corynebacterium, Flavobacterium, Micrococcus, Mycobacterium, Pseudomonas, Sarcina, Staphylococcus, Streptococcus* and *Xanthomonas.

ومن الواضح أن أنواع ***Pseudomonads*** واسعة الانتشار في الأراضى المزروعة وغير المزروعة ، وأنها يمكن أن تتواجد بأعداد تزيد عن المليون خلية في الجرام من التربة ، أما البكتريا من أنواع **Arthrobacters** فإنها توجد بأعداد وفيرة في التربة مما يجعل لها دور أساسي وهام في التربة ، وقد يرتبط هذا الدور بقدرتها العالية على تحليل المواد العضوية ، وبالنسبة لجنس ***Arthrobacter*** فإنه من الصعب وضع حدود واضحة له ، حيث يتداخل معه في الصفات أجناس أخرى مشابهة أهمها جنس ***Corynebacterium*** الذي يكثر وجود الأنواع الرمية منه في التربة، ويطلق مصطلح **Coryneforms** علي سلالات كل من جنسى ***Arthrobacter* and *Corynebacterium*** وهي التي تتميز بأنها بكتريا عصوية غير متجرثمة ، موجبة لصبغة جرام ، غير متحركة ، تميل خلاياها لأخذ أشكال غير منتظمة.وتنتمي لمجموعة **Coryneforms** أيضا أنواع البكتريا الصامدة للأحماض من جنس ***Mycobacterium*** وهي كائنات دقيقة اقل انتشارا في التربة ويمكن أن تصل أعدادها إلي حوالى مليون خلية في الجرام الواحد.

ومن السهل عزل أنواع البكتريا التابعة لجنس ***Bacillus*** وغيره من البكتريا المتجرثمة عن طريق بسترة معلق التربة علي درجة حرارة ٨٠° م لمدة ١٠-٢٠ دقيقة لقتل الخلايا الخضرية مع بقاء الجراثيم الداخلية حية ، ومن خلال التنمية الهوائية يمكن استبعاد الأنواع المتجرثمة اللاهوائية الأخرى الشائعة الانتشار التي تتبع جنس ***Clostridium*** ، وتوجد الأنواع من جنس ***Bacillus*** بأعداد كبيرة في التربة تتراوح بين 10^6-10^7 في الجرام وقد يزيد عن ذلك، وتوجد البكتريا اللاهوائية التابعة لجنس ***Clostridium*** في معظم الأراضى الخصبة علي الرغم من توفر O_2

بشكل واضح ، لأن وجود ظروف هوائية كاملة هو أمر لا يحدث في الواقع تحت الظروف الطبيعية للتربة ، فنشاط الميكروبات الهوائية واللاهوائية اختياراً التي تستهلك O_2 وتنتج بدلاً منه CO_2 تعمل علي خفض الضغط الجزيئى للأوكسجين إلي الحد الذي يسمح بنمو الأنواع اللاهوائية حتماً، وعادة ما يحدث هذا داخل تجمعات حبيبات التربة وأيضا في المناطق السيئة الصرف. وتوجد البكتريا من جنس ***Clostridium*** بأعداد تتراوح بين 10^6-10^7 في الجرام من التربة ، وجميع الأنواع التابعة لهذا الجنس تكون جراثيم داخلية مقاومة للحرارة كما تتميز بأنها تنمو لاهوائياً.



شكل١(١) – ٤ :أشكال وموضع الجراثيم البكتيرية

كذلك تحتوى التربة علي أنواع من البكتريا الممرضة للإنسان أو لحيوانات المزرعة أو لنباتات المحاصيل، وأمكن التعرف علي وجود البكتريا الممرضة للنبات من أجناس ***Pseudomonas*** و ***Erwinia*** و ***Xanthomonas*** في أنواع مختلفة من الأراضي ، وبعض أنواع هذه البكتريا يعيش في التربة بصفة طبيعية ، بينما البعض الأخر يصل إلي التربة عن طريق التلوث بإفرازات أو أنسجة النباتات المريضة، أما بعض أنواع البكتريا التي تسبب أمراضا للإنسان أو الحيوان مثل ***Clostridium botulinum , Bacillus anthraces*** **and** ***Clostridium tetani*** فجراثيم هذه البكتريا تبقى حية في التربة لفترات طويلة ، لذلك فوجودها كامنة في التربة يمكن أن يؤدي إلي الإصابة بالتسمم البوتيوليني أو بالتيتانوس أو بالجمرة الخبيثة.

تقسيم بكتريا التربة بالنسبة لمصادر الكربون والطاقة

البكتريا الموجودة في التربة متباينة بالنسبة لمصادر الكربون والطاقة ويمكن تقسيم بكتريا التربة بالنسبة لمصادر الكربون والطاقة إلي الأقسام الأتيه:

أ) بكتريا هتيروتروفية Heterotrophic bacteria

وهى البكتريا عضوية التغذية(Organotrophic) وتحصل علي احتياجاتها من الكربون والطاقة من مصادر عضوية ، وتمثل هذه المجموعة أغلب البكتريا التي تعيش في التربة وتقوم بعديد من التفاعلات الهامة في تحليل المواد العضوية وتحولها إلي صور بسيطة ميسرة للنباتات مثل تحلل البروتينات بواسطة Proteolysis والنشدرة ومعدنة الفوسفور العضوي ، كما أنها تلعب الدور الرئيسي في تكوين الدبال Humus وتنتج هذه البكتريا أثناء تحللها للمواد العضوية أحماض تساعد علي إذابة كثير من العناصر المعدنية غير الذائبة في الأرض وتجعلها قابلة للاستفادة بواسطة النباتات كما أن هذه المجموعة تحتوى علي أهم أنواع البكتريا المثبتة للنتروجين الجوي.

ب) بكتريا أوتوتروفية Autotrophic bacteria

وهى البكتريا معدنية التغذية(Lithotrophic) وهي تحصل علي الكربون اللازم لها من CO_2 ولا تحتاج إلي مواد عضوية لنموها وتحصل علي الطاقة من أكسدة مواد كيميائية قابلة للأكسدة أو من التمثيل الضوئى وهذه المجموعة تنقسم إلي قسمين :

١- Chemolithotrophic : وهذه البكتريا تحصل علي الطاقة من أكسدة مواد كيميائية غير عضوية ، وهذه البكتريا لها أهمية كبرى في التربة فمنها بكتريا التأزت Nitrifying bacteria وهي تقوم بأكسدة الأمونيا المضافة للتربة أو الناتجة من عملية النشدرة إلي نيتريت (NO_2^-) Nitrite ثم إلي نترات Nitrate (NO_3^-) كما أن منها بكتريا أكسدة الكبريت وهي تؤكسد S, H_2S ومركبات الكبريت المختزلة الأخرى إلي كبريتات $SO_4^=$ كما أن منها أيضاً بعض أنواع بكتريا الحديد.

٢- Photolithotrophic : وهي البكتريا التي تحصل علي الطاقة اللازمة لها من عملية التمثيل الضوئى، ويمكن تقسيم البكتريا من حيث حصولها على الطاقة من التمثيل الضوئى إلى قسمين رئيسيين:

أولاً: البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين

Anoxygenic phototrophic bacteria

وهى تقوم بالتمثيل الضوئى تحت الظروف اللاهوائية فقط ولا تنتج أكسجين عند التمثيل الضوئى، وتحتوى على صبغة كلورفيل بكتيرى وبعض الصبغات الأخرى المساعدة، وتتبع هذه البكتريا فى تمثيلها الضوئى نظام الفسفرة الدائرية حيث تمتلك خلاياها صبغات النظام الضوئى رقم ١ فقط ويضم هذا القسم نوعين من البكتريا:

أ) البكتريا الأرجوانية Purple photorophic bacteria

وهى بكتريا وضعت فى تقسيم Bergey's Manual of Systematic Bacteriology فى المجلد الثانى تحت عنوان Proteobacteria والذى صدر عام ٢٠٠٥وتضم عائلتين:

- البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية Rhodospirillaceae وتتبع طائفة Alphaproteobacteria ويتميز أفراد هذه العائلة بأنها تستطيع القيام بالتمثيل الضوئى تحت الظروف اللاهوائية مع استخدام المواد العضوية مثل الأحماض الدهنية والسكريات كمصدر للكربون وهى مايطلق عليها Photoheterotrophs ، كما وجد أنها قد تنمو هوائيا بعيدا عن الضوء، ومن أهم أجناسها *Rhodospirillum* .
- البكتريا الأرجوانية الكبريتية Chromatiaceae وهي عائلة وتتبع طائفة Gammaproteobacteria وهي Photoautotrophs تستخدم H_2S أو الكبريت كمستقبل للإلكترونات في التمثيل الضوئى وفي حالة استخدامها لـ H_2S يترسب الكبريت الناتج عن الأكسدة داخل الخلايا حيث يتم أكسدته إلي كبريتات في مرحلة ثانية ومن أهم أجناسها *Chromatium*.

ب) البكتريا الخضراء **Green phototrophic bacteria**

وضعت فى تقسيم **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology** فى المجلد الأول تحت عنوان **The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria** والذى صدر عام ٢٠٠١ وهذه تضم عائلتين أيضاً ، هما:

-البكتريا الخضراء الكبريتية **Chlorobiaceae** وهي تتبع **Phylum: Chlorobi** وهى لاهوائية إجبارية و**Photoautotrophs** حيث تستخدم H_2S كمعطي للهيدروجين في التمثيل الضوئى ويتم ترسيب الكبريت الناتج من الأكسدة خارج الخلايا قبل أن تتأكسد إلي كبريتات في مرحلة ثانية ومن أهم أجناسها جنس ***Chlorobium*** .

-البكتريا الخضراء غير الكبريتية **Chloroflexaceae** وهى تتبع **Phylum: Chloroflexi** وقد تنمو هوائيا وتحصل على الكربون والطاقة من المواد العضوية وتصبح **Chemoorganotrophs** لأنها لاتستطيع التمثيل الضوئى إلا فى الظروف اللاهوائية، وعند نموها فى الظروف اللاهوائية فإنها تستطيع القيام بالتمثيل الضوئى**Photoheterotrophically** مع استخدام المواد العضوية كمصدر للكربون، لأنها غير قادرة على استخدام H_2S كمعطي للهيدروجين بل تستخدم السكريات والمواد العضوية، ومن أهم أجناسها جنس ***Chloroflexus***.

ويمكن تلخيص طريقة التمثيل الضوئى فى البكتريا الممثلة للضوء غير الأكسجينية فى المعادلتين:

-البكتريا الأرجوانية والخضراءالكبريتية (**Photoautotrophs**)

$$CO_2 + 2H_2S \xrightarrow{\text{Light + bacteriochlorophyll}} (CH_2O) + H_2O + 2S$$

-البكتريا الأورجوانية والخضراء غير الكبريتية (**Photoheterotrophs**)

$$CO_2 + 2CH_3CHOHCH_3 \xrightarrow{\text{Light + bacteriochlorophyll}} (CH_2O) + H_2O + 2CH_3COCH_3$$

ثانياً : البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين

Oxygenic phototrophic bacteria

وهذه المجموعة كانت تسمي باسم الطحالب الخضراء المزرقة Blue green algae وأصبحت تسمى Cyanobacteria وقد تسمى البكتريا الخضراء المزرقة، ورغم تشابه السيانوبكتريا مع الطحالب إلا أنها تنتمى للبكتريا للأسباب التالية:

- الجدار الخلوى بكل من السيانوبكتريا والبكتريا يحتوى على حمض الميوراميك.
- التركيب الخلوى متشابه فى السيانوبكتريا والبكتريا.
- السيانوبكتريا لاتحتوى على ميتوكوندريا أو جهاز جولجى.
- النواة بكل منهما عبارة عن حمض DNA حلزونى مزدوج الخيوط، دائرى بدون غلاف نووى.
- الريبوسومات بكل منهما من النوع 70S .

وهى تعتبر أكبر مجموعة متنوعة الأشكال من البكتيريا ذاتية التغذية الضوئية وهي ذات انتشار واسع في الطبيعة، للكثير من أنواعها القدرة على تثبيت نيتروجين الهواء الجوي، وتوجد منها أنواع متحركة وأخرى غير متحركة، وهى سالبة لجرام ، ممثلة للضوء كمصدر للطاقة مع إنتاج أكسجين، وهى من أقدم الكائنات التى ظهرت على الأرض، وتنتشر بالأراضى والأنهار والمحيطات.

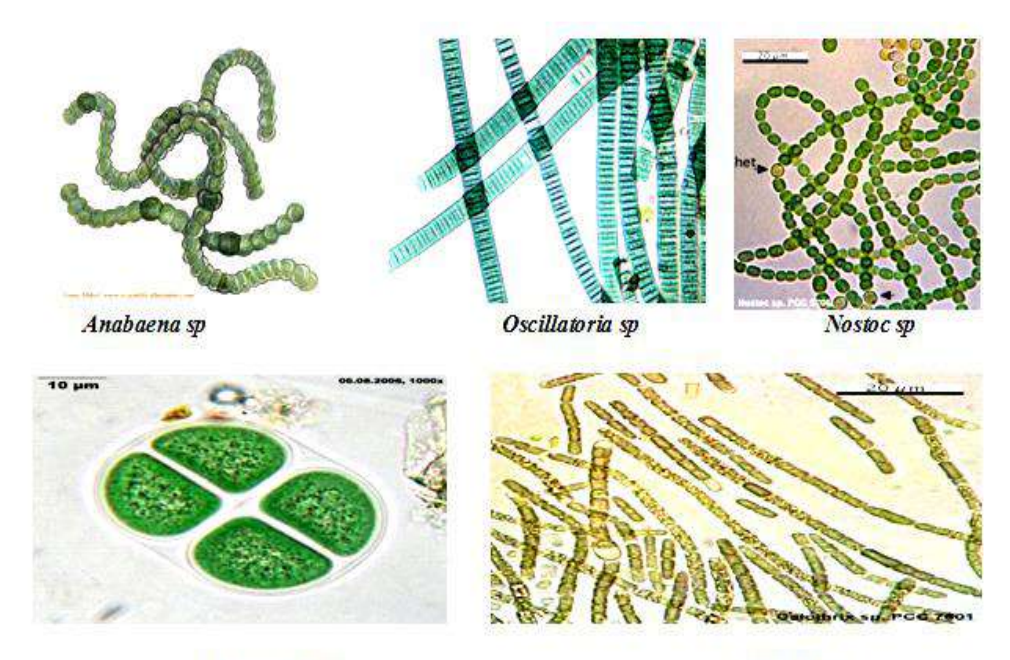
التمثيل الضوئى فى السيانوبكتريا

يحدث التمثيل الضوئى المنتج للأكسجين فى مجموعة السيانوبكتريا باختزال CO_2 إلى كربوهيدرات فى وجود الماء كمعطى للالكترونات مما يؤدى إلى انطلاق الأكسجين، ويتم ذلك هوائيا (كما يحدث فى البلاستيدات الخضراء فى النبات)، وتحتوى السيانوبكتريا على صبغات كلا النظامين الضوئيين ٢،١ موجودة فى الثيلاكويد والتى يوجد بأغشيتها النظام الناقل للالكترونات(فيرودوكسين وبلاستوسيانين وسيتوكروم) وبها تتم عملية التمثيل الضوئى، أما الإنزيمات الخاصة بتفاعلات الظلام فتوجد فى سيتوبلازم الخلية.

ويرجع لون هذه البكتيريا إلى وجود صبغة الكلوروفيل أ(Chlorophyll II) وصبغة الفيكوبيلين وهى مميزة للسيانوبكتريا، هذا بالإضافة إلى وجود أصباغ الكاروتينويدات والبيتاكاروتين، والمادة الغذائية المختزنة هي الجليكوجين، حيث يقوم كلوروفيل أ بامتصاص الضوء الأحمر ذو الطول الموجى ٦٨٠-٦٨٣ نانوميتر وتقوم الفيكوبيلين بامتصاص الضوء ذو الطول الموجى من ٥٠٠-٦٥٠ نانوميتر، فى حين أن الكاروتينويدات تعمل كمنظم حيث تمتص الطاقة الضوئية الزائدة عن حاجة الخلية وتحولها إلى حرارة وبذلك تحمى الكلوروفيل والصبغات الضوئية من تفاعلات الأكسدة الضوئية الضارة. ويتم التمثيل الضوئى تبعا للمعادلة الأتيه:

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Light + Chlorophyll}} (CH_2O) + O_2$$

ومن حيث دور البكتريا الممثلة للضوء في التربة فإن هذه البكتريا تقوم بتجميع وتخزين الطاقة مثل النباتات والطحالب ، كما أن هذه البكتريا تقوم بأكسدة مركبات الكبريت المختزلة في التربة والمياه، ولقد تركزت الدراسات الحديثة علي الأهمية الزراعية لبعض البكتريا الخضراء المزرقة التي لها القدرة علي استخدام النيتروجين الغازى كمصدر للنيتروجين اللازم لنموها وبناء بروتوبلازم خلاياها، وتنحصر هذه الخاصية في بعض أفراد مجموعة السيانوبكتريا المثبتة للنيتروجين الجوي مثل *Oscillatoria, Nostoc, Chroococcus, Calothrix* and *Anabaena.*



شكل١ (١)–٥: أشكال مختلفة من الطحالب الخضراء المزرقة (السيانوبكتريا)

ويزرع الأرز سنوياً وعلي مدى عدة قرون مضت في مناطق شاسعة من أسيا دون إضافة للنيتروجين مثل السماد العضوي أو الأسمدة الكيميائية في حين يعتبر النيتروجين الغازى هو الصورة الوحيدة المتاحة، وبالتالى تقوم الكائنات الحية الدقيقة ومنها السيانوبكتريا بتمثيل هذه الصورة الخاملة ودعم التربة بمركبات النيتروجين المختلفة، ولقد أظهرت التجارب أن الزيادة في المحتوى النيتروجيني لأراضى الأرز الغدقة غالباً ما يصاحبه انتشار لمجموعة السيانوبكتريا وازدهارها.

ونظراً للارتفاع النسبي في أسعار الأسمدة النيتروجينية في بعض الأقطار المنتجة للأرز تلقح أراضى الأرز أحياناً بأنواع من السيانوبكتريا وخاصة التي تعيش معيشة تعاونية مع بعض السرخسيات مثل الأزولا، ولقد أوضحت الأهمية التطبيقية لمثل هذا التلقيح (Algalization) حدوث زيادة في معدلات إنتاج الأرز، وتشير بعض الدلائل إلي أن التأثير الإيجابي للتلقيح لا يعزي إلي تثبيت النيتروجين الجوي فقط بل أيضاً إلي الفعل الغير مباشر لبعض نواتج التمثيل الغذائى للسيانوبكتريا والتي تنشط نمو نباتات الأرز.

البكتريا المحبة للملوحة Halophiles

البكتريا المحبة للملوحة تضم مجموعة من البكتريا لها القدرة علي النمو في وجود تركيز عالي من الملوحة وتضم هذه البكتريا ما يلي :

أ) بكتريا محبة للملوحة العالية **Extreme halophiles**

وهي التي تنمو في وجود تركيز عالي من كلوريد الصوديوم يصل إلي ٢٠٪ أو أكثر.

ب) بكتريا محبة للملوحة المتوسطة **Moderate halophiles**

وهي التي تنمو في وجود تركيز من كلوريد الصوديوم يتراوح من ٥ – ٢٠٪ .

ج) بكتريا متحملة للملوحة **Halo –tolerant**

وهي التي تستطيع أن تنمو في محاليل ملحية من كلوريد الصوديوم يصل تركيزها إلي ١٠٪.

ومن أهم الأجناس التي تتبع هذه المجموعة من البكتريا

Halobacterium & Halococcus

وتنمو أنواع البكتريا التي تتبع مثل هذه الأجناس ببطء حيث يتراوح عمر الجيل لها من ٧ – ١٥ ساعة ودرجة الحرارة المثلي لها ٣٧ ^{o}م.

وتوجد هذه البكتريا في المياه المالحة كالبحيرات والبحار، كذلك توجد هذه البكتريا في الأراضي الملحية مثل أراضي المستنقعات كما توجد في الأغذية المملحة مثل اللحوم والأسماك والمخللات.

أيضاً يوجد أنواع أخري من البكتريا في التربة مثل البكتريا الزاحفة التي تكون أجسام ثمرية حيث تعرف بالبكتريا اللزجة وتنتمي إلي رتبة **Myxobacteriales** ، ويوجد بالتربة أنواع أخري من البكتريا الزاحفة والتي لاتكون أجساماً ثمرية مثل ***Thiothrix*** **and** ***Beggiatoa*** والتي تعمل علي أكسدة مركبات الكبريت المختزلة كذلك الأنواع التي لها القدرة علي تحليل السليولوز في التربة مثل ***Cytophaga*** **and** ***Sporocytophaga***.

أيضاً يوجد بالتربة أنواع أخري تعرف بالبكتريا المغلفة حيث تكون هذه البكتريا غلافاً يحيط بسلسلة الخلايا معطياً لها المظهر الخيطي حيث يساعد هذا

الغلاف على التصاق البكتريا بالأسطح الصلبة ومن أمثلة هذه البكتريا بكتريا الحديد والتي تلعب دوراً هاماً في دورة الحديد مثل أجناس ***Sphaerotilus,Leptothrix.***

ويوجد في التربة أنواع أخرى من البكتريا تتكاثر بالتبرعم تعرف بالبكتريا ذات الزوائد، والزوائد عبارة عن امتدادات خيطية تمتد من جدار الخلية أو غشائها السيتوبلازمى تساعد البكتريا على الالتصاق بالأسطح الصلبة أو امتصاص المواد الغذائية ومن أمثلتها جنس مثل ***Hyphomicrobium,Caulobacter.***

ثانياً: الأكتينوبكتريا Actinobacteria

تختلف البكتريا اختلافاً واضحاً عن الفطريات ، فهناك الكثير من الخواص المورفولوجية التي تفصل بينهما ، ويوجد مجموعة ثالثة من الكائنات الحية الدقيقة تقع بن البكتريا البسيطة التركيب والفطريات ، فهي مجموعة تتداخل حدودها مع كل من المجموعة الأكثر بدائية ، والمجموعة الأكثر تطوراً وهي مجموعة الأكتينوبكتريا أو ما كان يطلق عليها قديما أكتينوميسيتات.

وتقسم الأكتينوبكتريا بالمفهوم القاطع علي أنها من البكتريا والأجناس المختلفة من هذه الكائنات الدقيقة في التربة تكون خيوطا رفيعة متفرعة تتحول إلي ما يعرف بالميسيليوم Mycelium والخيوط المفردة يطلق عليها اسم هيفات Hyphae وهي تشبه الفطر في ثلاث صفات هامة:

١- أن الأكتينوبكتريا الراقية تتميز بخاصية التفرع الكثير التي تميز الفطريات.

٢- معظم الأكتينوبكتريا تكون ميسيليوم غير مقسم هوائى وكونيديات.

٣- عند نمو الأكتينوبكتريا في البيئات السائلة نادرا ما تتكون عكارة في المزرعة، كما يحدث في البكتريا، ولكنها تظل علي حالة كتل متجمعة.

ورغم ذلك فإن الأكتينوبكتريا تتبع البكتريا للأسباب الأتية:

- تساوى قطر الهيفا مع قطر الخلية البكتيرية تقريبا.
- يتشابه تركيب الجدار الخلوى في كل من الأكتينوبكتريا والبكتريا.
- يتشابه التركيب الخلوى في كلا النوعين حيث لا تحتوى الأكتينوبكتريا على غشاء نووى ولا على ميتوكوندريا.
- تكون بعض أنواعها جراثيم داخلية كما في البكتريا.

- جـنس الـ ***Frankia*** يثبـت النيتـروجين وهـى صـفة لا توجـد إلا فـي البروكاريوتا(الكائنات الحية الدقيقة بدائية النواة).
- الأكتينوبكتريـا حساسـة لإنـزيم **Lysozyme** الـذي يحلـل الجـدار الخلـوي مثـل البكتريا.

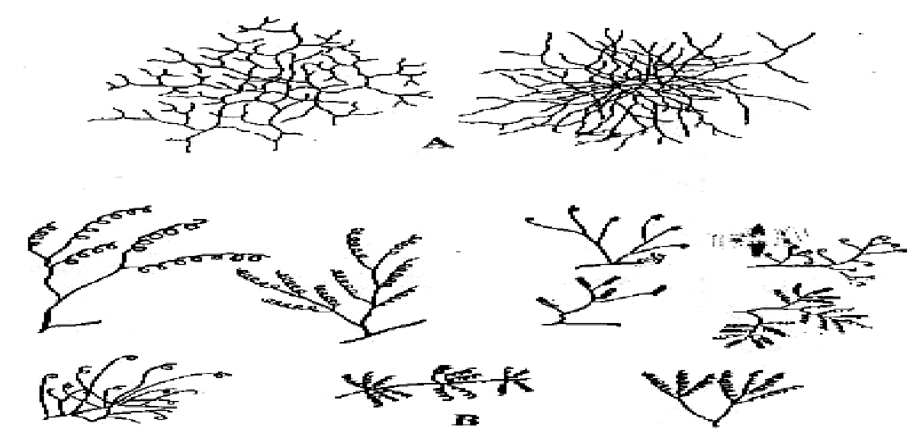
الانتشار والكثافة العددية

تنتشر الأكتينوبكتريا انتشارا واسعا ، حيث توجد بأعداد وفيرة ليس فقط في التربـة ، ولكن أيضاً فـي الأوساط البيئيـة الأخرى كالأسمدة العضويـة وقـاع البحيرات وهي تنتشر في الطبقة السطحية من التربة ، كما توجد أيضا في الآفاق السفلية حتى أعمـاق بعيـدة ، وهـذه الميكروبـات تلـى البكتريـا مـن حيـث وفـرة الأعـداد فـي التربـة، وأحياناً ما تتساوي معها في أعدادها الحيـة ، وتمثـل الأكتينوبكتريـا الجزء الأكبـر مـن المحتوى الميكروبى للأوساط البيئية ذات الـ pH المرتفع بوجه خاص.

الأكتينوبكتريا تستطيع أن تستخدم مصادر عديدة للكربون والطاقة مثل الأحماض العضوية والسكريات البسيطة والمعقدة والليبيدات، كذلك تستطيع الأكتينوبكتريا أن تستخدم الهيدروكربونات والسيليولوز والكيتين واللجنين وأن تحلل الكثير من المبيدات التي تصل إلي التربة الزراعية، ولذلك يطلق علي الأكتينوبكتريا مصطلح كانسات التربة Soil scavenger أو الملتهمات Soil omnivorous أيضا تستطيع الأكتينوبكتريا أن تستخدم العديد من مصادر النيتروجين مثل الأمونيا والنترات والأحماض الأمينية والبروتينات ومن أهم الأجناس التي تنتشر في التربة الزراعية:

Nocardia, Micromonospor, Corynebacterium, Streptomyces, Cellulomonas, Frankia, Micrococcus, Arthrobacter, Mycobacterium **and** ***Micropolyspora.***

وتتراوح الأعداد المتحصل عليها بطريقة الأطباق بين ١٠^{٥} – ١٠^{٨} في الجرام من التربة وذلك بالنسبة لأراضى المناطق المعتدلة، وتمثل الأكتينوبكتريا نسبة تتراوح بين ١٠–٥٠٪ من العدد الكلي للميكروبات مقدراً بطريقة الأطباق في الأراضي البكر والأراضي الزراعية كما تزداد نسبة تواجدها في الأراضي القلوية خصوصاً عند جفافها.



شكل١(١)– ٦: أشكال مختلفة من الأكتينوبكتريا

ومعظم جراثيم الأنواع التابعة لجنس ***Streptomyces*** الذي يعتبر أكثر الأجناس تواجداً في التربة يمكن أن تنبت تحت الظروف الطبيعية عندما يضاف إلي التربة مواد عضوية جديدة فتنمو الهيفات حول الأجزاء الدقيقة من المادة العضوية وعندئذ تتكون الجراثيم بوفرة في هذه المواقع الدقيقة من التربة والتي لا تزال تحتوى علي قدر مناسب من المادة العضوية ، ويلي ذلك اختفاء الميسيليوم بتحليله عن طريق إنزيمات الميكروب نفسه أو إنزيمات الميكروبات الأخرى المجاورة له ، ووجود الكونيديات بصفة سائدة في التربة يشير إلي مقاومة هذه الجراثيم للعوامل البيئية غير المناسبة فكثير من الأنواع يقوم بتكوين جراثيم تقاوم الجفاف بحيث يمكن لهذه الكونيديات أن تبقى في التربة الجافة هوائياً لعدة سنوات.

تأثير العوامل البيئية علي نمو الأكتينوبكتريا

١ – المادة العضوية Organic matter

عند إضافة المادة العضوية فإنه عادة ما تزيد أعداد البكتريا والفطريات في بادئ الأمر خصوصاً عند وجود وفرة من العناصر النيتروجينية ، ولا تلاحظ استجابة من الأكتينوبكتريا إلا في نهاية مراحل التحلل ، وهذا يمكن أن يشير إلي أن سرعة معدلات نمو البكتريا والفطريات وتعدد أنشطتها الكيميائية الحيوية يمكنها من أن تسبق الأكتينوبكتريا في عملية التحلل ثم لا تلبث أن تبدأ نشاطها بعد استهلاك الجزء الميسر من المادة العضوية وانعدام التنافس بينها وبين الميكروبات الأخرى .

٢- رقم الـ pH

لا تتحمل هذه الكائنات الحية الدقيقة انخفاض رقم الأس الهيدروجيني للوسط، فكثافة الأعداد تتناسب عكسياً مع تركيز أيون الأيدروجين ، ومعظم السلالات من جنس *Streptomyces* والأنواع المشابهة لها لا يمكنها أن تتكاثر كما ينخفض نشاطها الحيوي عند درجة حموضة أقل من ٥ ، وفي الوسط الشديد الحموضة لا تشكل أعدادها سوى أقل من ١٪ من مجموع أعداد الميكروبات الحية، وتعمل الإضافات المتتالية من الأسمدة النشادرية إلي التربة علي تثبيط الأكتينوبكتريا نتيجة أكسدة الأمونيا إلي حمض نيتريك بفعل بكتريا التأزت والانخفاض في رقم الأس الأيدروجيني تبعاً لذلك يؤدي إلي إيجاد ظروف غير مناسبة لنمو هذه الميكروبات، أما إضافة الجير إلي الأراضى الحمضية فيكون له تأثير منشط لنمو الأكتينوبكتريا نظرا لأن التكاثر الخضري لهذه الميكروبات يناسبه الوسط المتعادل أو القلوي وأنسب الظروف الملائمة لوفرة أعدادها عندما يكون رقم الأس الأيدروجيني للتربة ما بين ٦,٥ - ٨,٠.

٣- الرطوبة Moisture

تعتبر الرطوبة من العوامل البيئية الأخرى الهامة، ففي ظروف تشبع التربة بالماء أو عند زيادة محتوي الرطوبة عن الحد الأمثل للميكروبات نجد أنه قليلاً ما تتواجد الأكتينوبكتريا ، لأن هذه الميكروبات هوائية لا يمكنها التكاثر والانتشار عند نقص O_2 ، ومن ناحية أخرى فإن الأكتينوبكتريا لا تتأثر كثيرا بالظروف شبه الجافة بعكس الحال في البكتريا ، بل إن هذه الميكروبات الخيطية تميل لأن يناسبها مستوي رطوبة منخفض سواء للتكاثر الخضري أو لتكوين الكونيديات، لذلك فإن أعداد الأكتينوبكتريا تظل عالية في التربة بعد جفافها ، بينما تنخفض أعداد البكتريا لعدم قدرتها علي تحمل ظروف الجفاف.

تقسيم الأكتينوبكتريا Taxonomy of Actinobacteria

وضعت الأكتينوبكتريا تبعا لتقسيم Bergey's Manual of Systematic Bacteriology فى المجلد الخامس تحت عنوان Actinobacteria والذى صدر عام ٢٠١٢، وقد ضمت تلك القبيلة مجموعة من البكتريا الموجبة لجرام والتى تتميز عن البكتريا الأخرى بمحتواها العالى من نسبة الجوانين والسيتوزين فى DNA (أكثر من ٥٥ ٪ G+C) وقد تميزت تلك المجموعة بالاختلاف فى الشكل المورفولوجى حيث أن بها البكتريا الكروية مثل *Micrococcus* والكروية–العصوية مثل *Arthrobacter* والخيطية المكونة للهيفات مثل *Nocardia* والمكونة للميسيليوم المتفرع مثل *Streptomyces*، كما ضمت أيضا تحتها العديد من البكتريا المرضية مثل *Corynebacterium diphtheria* الذى يسبب الدفتيريا وميكروب *Mycobacterium tuberculosis* الذى يسبب السل. وبناء على التقسيم الحديث المبنى على تحليل 16S rRNA فقد وضعت أهم البكتريا والتى تهمنا كزراعيين فى ذلك المجلد وقد اخترنا منها الأكثر أهمية فى المجال الزراعى وهى كالتالى:

Phylum XXVI: Actinobacteria
- **Class I: Actinobacteria**
  - **Order: Actinomycetales**
    - **Family: Actinomycetaceae**
      - ***Actinomyces***
  - **Order: Bifidobacteriales**
    - **Family: Bifidobacteriaceae**
      - ***Bifidobacterium***
  - **Order: Corynebacteriales**
    - **Family: Corynebacteriaceae**

Corynebacterium

Family: Mycobacteriaceae

Mycobacterium

Family: Nocardiaceae

Nocardia

Order: Frankiales

Family: Frankiaceae

Frankia

Order: Micrococcales

Family:Micrococcaceae

Micrococcus

Arthrobacter

Family: Brevibacteriaceae

Brevibacterium

Family: Cellulomonadaceae

Cellulomonas

Family. Microbacteriaceae

Microbacterium

Order: Micromonosporales

Family: Micromonosporaceae

Micromonospora

Actinoplanes

Order: Propionibacteriales

Family: Propionibacteriaceae

Propionibacterium

Order: Streptomycetales

Family: Streptomycetaceae

Streptomyces

وعلي الرغم من أن هناك عدداً كبيراً من أجناس الأكتينوبكتريا يعيش في التربة ، إلا أنه غالبا ما يكون جنس ***Streptomyces*** هو السائد بصفة دائمة في التربة حيث تمثل أعداده من ٧٠ –٩٠٪ من مجموعات الأكتينوبكتريا النامية ونادراً ما تقل نسبة وجوده عن ذلك ، إلا أنه في بعض الأحيان قد تشكل الأنواع التابعة لهذا الجنس نسبة ٥٪ فقط من مجموع الأكتينوبكتريا في بعض الأراضى .

ويتميز جنس ***Streptomyces*** بميسيليوم لا يتجزأ بل تتكون عليه الكونيديات مباشرة ، كما أنه قادر علي تكوين ميسيليوم متطور وهيفات هوائية تحمل كونيديات كثيرة علي هيئة سلاسل مميزة ، تتكون هذه الجراثيم عن طريق انقسام الهيفات الذي يبدأ من طرف الخيط ويمتد إلي قاعدته، وعندما يتم تكوين الكونيديات فإنها تكون ذات أشكال بيضاوية أو عصوية تشابه خلايا البكتريا الحقيقية من حيث الحجم والشكل الموروفولوجي ، ويقتصر نمو الهيفات علي الأجزاء الطرفية منها ، بينما تظل باقى خيوطها ساكنة إلي حد كبير ، وعند التنمية في المزارع السائلة الساكنة فإن الإستربتوميسيتات لا تكون عكارة في المزرعة ، بل تبقى الخلايا علي السطح علي هيئة قشور واضحة ، وعند تهوية المزارع وتقليبها فإن النمو يبقى أيضا غير متجانس ويتكون كتل متجمعة أو كرات صغيرة متميزة. وتكون على البيئة الغذائية صلبة ذات قوام جلدي تقاوم التكسير.

كذلك من خواص الإستربتوميسيتات إنتاجها لرائحة مميزة جدا تشبه رائحة التربة أثناء تقليب الأرض ، ومن الممكن جدا أن تكون الرائحة المميزة للأرض المحروثة حديثا ناشئة عن وجود هذه الكائنات ، ولقد تم التعرف علي المركب أو مجموعة المركبات المسئولة عن هذه الرائحة ، فنواتج التمثيل الغذائى ذات الرائحة الخاصة للإستربتوميسيتات والتي أثارت اهتماماً كبيرًا يطلق عليها **Geosmin** ، وعلي أى حال فإنه من الممكن أن تكون هناك نواتج طيارة أخرى تنتجها هذه الميكروبات تعتبر مسئولة عن هذه الرائحة المميزة.

دور الأكتينوبكتريا ونشاطها فى التربة

الأكتينوبكتريا من الميكروبات غير الذاتية التغذية ولذلك يصبح وجودها مرتبطا بوجود المواد العضوية المناسبة، وهي يمكنها استخدام عدة مركبات كربونية سواء بسيطة أو معقدة التركيب من أحماض عضوية وسكريات ، وسكريات عديدة وبروتينات وهيدروكربونات أليفاتية ، وفي المزارع النقية لهذه الميكروبات يمكن لأنواع عديدة منها أن تحلل السليولوز ولكن بمعدل بطئ ، كما أن الكثير منها يمكنه تحليل البروتينات والليبيدات والنشا والبكتين، ويعتبر تحليل الكيتين من الخواص المميزة للكثير من أنواع جنس ***Streptomyces*** ، وتؤدي إضافة هذا السكر العديد إلي التربة إلي تنشيط تكاثرها ، ونظراً للقدرة الفائقة للإستربتوميسيتات وبعض أنواع الأكتينوبكتريا الأخرى علي استخدام الكيتين كمصدر وحيد للكربون فإنه قد أمكن استخدام بيئات تحتوي علي هذا المركب لعزل أفراد هذه الميكروبات. كما يمكن لبعض الأنواع أن تنمو علي البيئات الغذائية الخالية من مصادر الكربون ، وهذه تعرف بالكائنات الدقيقة الأوليجوكربوفيلية **Oligocarbophilic**.

ومن الخواص الهامة التي جذبت الانتباه إلي رتبة **Actinomycetales** هي قدرة بعض الأنواع علي إنتاج بعض نواتج التمثيل الغذائى ذات أثر مضاد للميكروبات الأخرى تعرف بالمضادات الحيوية، وهذه المضادات الحيوية التي تنتجها مزارع الأكتينوبكتريا لها القدرة علي تثبيط أو منع نمو البكتريا والخمائر وكثير من أنواع الفطريات المختلفة، وتختلف نسبة وجود أنواع الأكتينوبكتريا المنتجة للمضادات الحيوية من تربة لأخرى ومن موسم لأخر، وعلي الرغم من الأهمية الصناعية والقيمة العلاجية لهذه المضادات الحيوية فإن الصورة مازالت غير واضحة فيما يتعلق بتأثير مثل هذه المركبات الكيميائية تحت الظروف الطبيعية ، وبالإضافة إلي إنتاج المضادات الحيوية فإن الكثير من أنواع جنس ***Streptomyces*** تفرز إنزيمات خارجية تحلل خلايا البكتريا ، ووجود مثل هذه الإنزيمات يمكن أن يكون له دورا هاماً في مجال الاتزان الميكروبى في التربة.

ومعظم الأكتينوبكتريا من الأنواع المحبة للحرارة المتوسطة ، فتقع درجة الحرارة المثلي لها في المدي ما بين ٢٥ – ٣٠° م كما توجد أنواع محبة للحرارة

العالية، وعموماً توجد أنواع محبة للحرارة العالية اختياراً تنمو في النطاق الحرارى ما بين ٥٠ – ٦٥° م الذي يعتبر أكثر ملائمة لها ، كما يمكنها أيضاً أن تنمو عند ٣٠° م ، وعلي العكس من ذلك فإن الأنواع المحبة للحرارة العالية حتماً لا يمكنها التكاثر في درجات الحرارة الأقل ، الأكتينوبكتريا المحبة للحرارة العالية شائعة الوجود في التربة والأسمدة العضوية الحيوانية والقش المتخمر وأكوام السماد العضوي.

ويمكن توضيح أهمية الأكتينوبكتريا في العمليات التالية :

١–تحليل بعض مكونات الأنسجة النباتية والحيوانية الصعبة التحلل ، وتشير ظاهرة عدم نشاط الأكتينوبكتريا إلا بعد مدة ، إلي أنها تفتقر إلي القدرة علي التنافس مع البكتريا والفطريات خلال فترة وجود المواد البسيطة ، ولكنها تصبح ذات قدرة فعالة في التنافس عندما لا يتبقى في التربة إلا المركبات المقاومة للتحلل.

٢–تكوين الدبال عن طريق تحويل مخلفات النبات إلي مركبات مماثلة للجزء العضوي الأصلي في التربة ، وتنتج الكثير من السلالات عند تنميتها في البيئات أنواع من المركبات المعقدة التركيب ذات الأهمية في تركيب دبال الأراضى المعدنية.

٣–القيام بالتحولات الحيوية في درجات الحرارة المرتفعة خصوصاً عند تحليل أكوام السماد العضوي والأسمدة العضوية الحيوانية ، حيث أن الأكتينوبكتريا المحبة للحرارة العالية تكون لها السيادة إلي درجة أن تصبح أسطح كومات الأسمدة العضوية ذات لون أبيض أو رمادي وهي الألوان المميزة لهذه الأنواع.

١) تسبب أنواعاً من الأمراض الكامنة في التربة مثل جرب البطاطس الذي يسببه ميكروب ***Streptomyces scabies*** أو جدرى البطاطا الذي يسببه ***Streptomyces ipomoeae***.

٢) بعض الأنواع مثل ***Frankia*** تثبت النيتروجين الجوى مع غير البقوليات.

٣) احتمال أهميتها في مجال التضاد الميكروبى وفي التوازن الميكروبي بين الكائنات الحية الدقيقة في التربة ، ودور الأكتينوبكتريا في النظام البيئي يمكن أن ينشأ عن قابلية أنواع عديدة منها لإفراز المضادات الحيوية أو الإنزيمات المحللة لخلايا الفطريات والبكتريا، ومما يجدر الإشارة إليه في هذا المجال أنه عند إضافة بعض المواد مثل الكيتين إلي التربة الذي يشجع تكوين الهيفات في

الأكتينوبكتريا يؤدي في بعض الأحيان إلي تثبيط الفطريات التي تسبب أمراضاً للنباتات الراقية.

ثالثاً: الفطريات Fungi

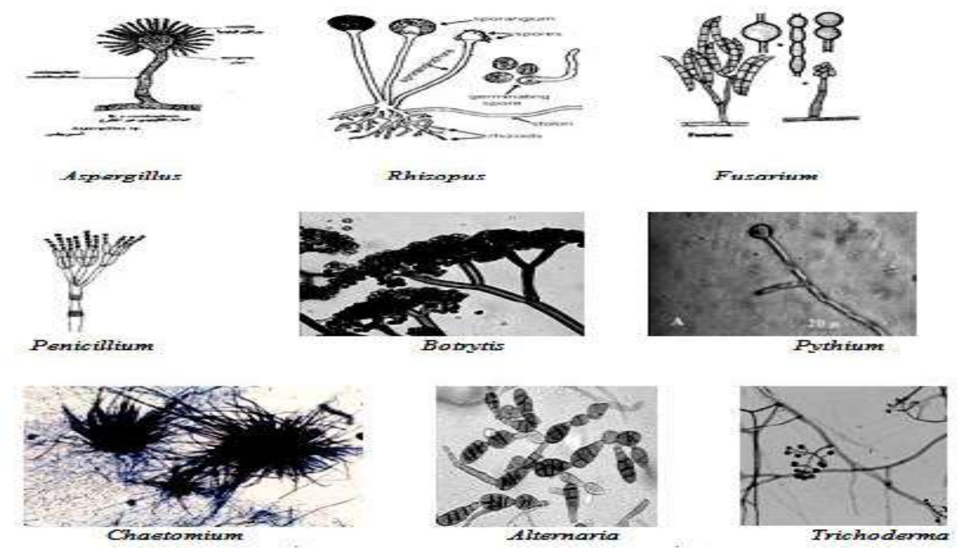
لا تكون الفطريات الجزء الأكبر من محتوى كائنات التربة الحية ، إلا أنها تمثل جزءا كبيرا من الكتلة الحية للميكروبات الموجودة في كثير من الأراضى الزراعية جيدة التهوية، ويرجع القلة النسبية لعددها وفي نفس الوقت تمثيلها لجزء كبير من الكتلة الحية إلي غزارة نموها علي صورة هيفات سميكة ومتشابكة ، وتسود الفطريات عن بقية الكائنات الحية الدقيقة في المخلفات النباتية بأراضى الغابات والأراضى الغنية بالمواد العضوية، وبصفة عامة تعتبر الفطريات العامل الأول المسئول عن تحليل المواد العضوية في الأوساط الحمضية.

وتنمو الفطريات علي صورة هيفات تتشابك مع بعضها مكونة نسيجا يعرف بالميسيليوم ، والميسيليوم إما أن يقسم بجدر عرضية ، وإما يبقي بدون تقسيم ويكون سيتوبلازم هيفات الفطر غير المقسمة كتلة واحدة مستمرة محتوية علي عديد من الأنوية ، وتتميز هيفات الفطر عن مثيلاتها في الأكتينوبكتريا بسمكها الواضح. والهيفات إما أن تكون خضرية أو تحمل الجراثيم الجنسية أو اللاجنسية ، والنوع الأول من الجراثيم محدود الانتشار بينما تكون الجراثيم اللاجنسية وفيرة وواسعة الانتشار في الطبيعة.

تأثير العوامل البيئية علي نمو الفطريات

تعتمد الفطريات في توزيعها علي مدي توفر المواد العضوية القابلة للأكسدة حيث أنها من الكائنات غير ذاتية التغذية التي لا يمكنها الحصول علي الطاقة اللازمة لنموها من أشعة الشمس أو أكسدة المواد المعدنية ، وعلي وجه العموم تختلف أعداد الفطريات باختلاف محتوى التربة من المادة العضوية ، وتؤدي إضافة مخلفات المحاصيل ، التسميد الأخضر أو أى مادة عضوية كربونية أخرى إلي التربة إلي زيادة ملحوظة في كثافة هذه الفطريات ، حيث تنتشر علي وجه الخصوص أجناس *Penicillium, Mucor, Fusarium, Aspergillus* and

Trichoderma . ويبلغ التأثير المنشط للمادة العضوية علي الفطريات أشده خلال الفترة الأولى لتحلل المادة العضوية التي غالباً ما تتغلغلها شبكة كثيفة من الهيفات وتتميز بعض الأنواع بكثافة أعدادها فور إضافة المادة العضوية ثم تأخذ في النقصان السريع بعد ذلك.



شكل١ (١) – ٧:أشكال لبعض الفطريات المنتشرة في التربة الزراعية

ومن أهم العوامل التي تؤثر علي نشاط الفطريات ما يلي:

١ – درجة الـ pH

يعتبر تركيز أيون الأيدروجين من العوامل الأساسية التي تتحكم في نشاط وتركيب الفطريات ، فكثير من الأنواع تنمو في نطاق pH واسع ينحصر بين الحموضة الشديدة والقلوية الزائدة وكثيراً ما توجد بعض الأنواع لها القدرة علي النمو معملياً عند رقم pH منخفض يصل من ٢ إلي ٣ بينما القليل منها يحافظ علي نشاطه عند رقم pH ٩ وتسود الفطريات في الأوساط الحمضية وتلعب دوراً أساسياً في التحولات الكيميائية الحيوية ولا يرجع ذلك إلي أن الحموضة تمثل الظروف المثالية لنمو الفطر ، وإنما يرجع ذلك إلي أنه في هذا الوسط الحمضى لا يوجد تنافس يذكر علي المواد الغذائية ، حيث أن الفطريات يمكنها تحمل الحموضة في حين أن البكتريا والأكتينوميسيتات التي تحتاج إلي نطاق من رقم الـ pH الضيق تكون حساسة لهذه الحموضة وبذلك تتوفر الظروف لسيادة الفطريات.

٢- الرطوبة Moisture

ويؤثر محتوى رطوبة التربة علي انتشار الفطريات وعملها بالتربة فنجد أن نشاط هذه الكائنات وما تقوم به من تحولات كيميائية يصل لأدني مستوي عند الانخفاض في درجة الرطوبة ، وأن التحسن في مستويات الرطوبة في الوسط يؤدي إلي زيادة في أعدادها ومع هذا فهناك بعض الفطريات يمكنها أن تظل نشطة في الظروف شبه الجافة ، وزيادة الرطوبة إلي درجة كبيرة له تأثير معاكس علي نمو الفطريات ، حيث أن الرطوبة الزائدة تحد من انتشار الأكسجين داخل التربة وبذلك يقل التمثيل الغذائي للميكروبات الهوائية ومن ضمنها الفطريات.

٣- الحرارة Temperature

معظم أنواع الفطريات تفضل درجة الحرارة المتوسطة Mesophilic ومن النادر أن تنمو علي درجات الحرارة العالية إلا أنه قد يوجد أحيانا قليل من السلالات المحبة للحرارة في الأراضي العادية وهذه الأنواع الأخيرة توجد في الأسمدة العضوية وتزيد أعدادها بارتفاع درجة الحرارة أثناء عملية التخمير حيث أن الأنواع المحبة للحرارة العالية تتكاثر علي ٥٠°م وأحياناً علي٥٥°م ولكن لا يمكنها النمو علي٦٥ °م، والفطريات التي تنمو علي ٣٧° م تتمركز علي سطح التربة حيث تتوافر الحرارة المناسبة خاصة خلال أشهر الصيف.

تصنيف أو تقسيم الفطريات Taxonomy of Fungi

يعتبر علم تقسيم الفطريات من العلوم المتغيرة باستمرار وقد اهتم كثير من العلماء المتخصصون فى هذا العلم بتقسيم الفطريات ، ونظراً لتشعب الفطريات فسوف يتم إيجاز المهم منها للطالب مع التركيز على بعض الفطريات الهامة في النواحي البيئية المختلفة . وهناك أسس مختلفة لتقسيم الفطريات ومن أهم هذه الأسس تكوين الميسيليوم ومقسم أو غير مقسم ، طبيعة دورة الحياة، نوع التكاثر الخضري، وجود أو غياب التكاثر الجنسي، نوع التكاثر الجنسي، التركيب الكيميائي للجدار الخلوي، الخواص الفسيولوجية مثل تخمر السكريات وتمثيل النترات وغيرها.

ولقد تم وضع الفطريات فى ثلاث ممالك هى:

- **مملكة الكائنات وحيدة الخلية Kingdom : Protista حيث تحتوى على شعبة الفطريات اللزجة Phylum: Myxomycota هذه الفطريات تتميز ببعض صفات الأوليات وبعض صفات الفطريات.**
- **مملكة استرامينوبيلا Kingdom: Stramenopila حيث تتبعها الفطريات البيضية Phylum: Oomycota وهي التي تتكاثر جنسياً بواسطة الجراثيم البيضية كما تكون جراثيم لاجنسية متحركة بالأسواط تعرف بالجراثيم الهدبية مثل فطر *Pythium* sp.**
- **مملكة الفطريات الحقيقية Kingdom: Fungi ويتبعها:**

– **الفطريات الزيجية Zygomycotina : وهي التي تتكاثر جنسياً بواسطة الجراثيم الزيجية ومنها أجناس *Rhizopus*, *Mucor*.**

– **الفطريات الأسكية Ascomycotina : وهي التي تتكاثر جنسياً بواسطة الجراثيم الأسكية ومنها أجناس: *Erysiphe, Leveillula* and *Chaetomium.***

– **الفطريات البازيدية Basidiomycotina : وهي التي تتكاثر جنسياً بواسطة الجراثيم البازيدية مثل فطريات الأصداء والتفحمات.**

فطريات الميكوريزا Mycorrhizeae

تمثل الميكوريزا أو الجذور الفطرية Fungal roots علاقة تعاون بين الفطريات والجذور النباتية وخلال هذه العلاقة يتواجد جزء من الميسيليوم الفطرى في أنسجة العائل والجزء الأخر بالتربة المحيطة بالجذور حيث ينتشر بها وفي معظم الأحوال فإن العوائل المصابة بهذه الفطريات تنمو بدرجة تفوق تلك غير المصابة، وتنتمي فطريات الميكوريزا من الناحية التقسيمية إلي الفطريات الزيجية أو الأسكية أو البازيدية.

أنواع فطريات الميكوريزا

يمكن تمييز أربعة أنواع رئيسية من الميكوريزا علي أساس الصفات المورفولوجية للإصابة وكذلك نوع العائل النباتي وسوف نركز علي نوعين فقط من الميكوريزا هما الميكوريزا المكونة للأوعية والتفرعات الشجيرية Vesicular arbuscular mycorrhizeae والتي تمثل أحد أنواع الميكوريزا الداخلية Endotrophic mycorrhizeae أو Endophyte mycorrhizeae والميكوريزا الخارجية Ectotrophic mycorrhizeae أو Ectophyte mycorrhizeae .

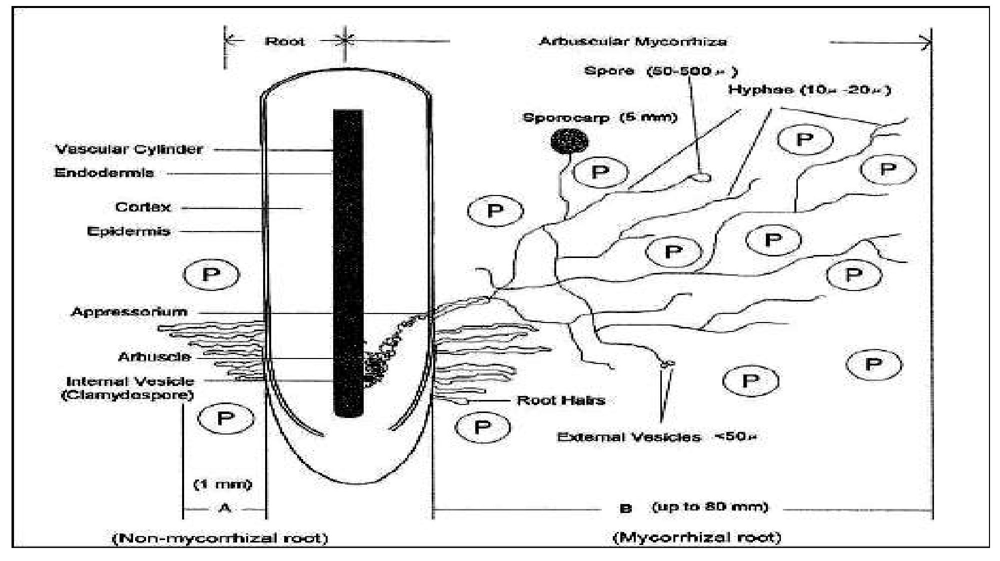
١- الميكوريزا المكونة للأوعية والتفرعات الشجيرية(الداخلية)

Vesicular Arbuscular Mycorrhizeae (Endomycorrhizeae)

وهي تمثل أكثر أنواع الميكوريزا انتشارا حيث لوحظ وجودها في أكثر من ١٠٠٠ جنس نباتي تنتمي إلي ٢٠٠ عائلة نباتية ، وتشتق التسمية بالـ Vesicular arbuscular من التركيبات التي يكونها الفطر داخل أنسجة العائل فالتفرعات الشجيرية Arbuscules عبارة عن تفرعات ثنائية لهيفات الفطر داخل خلايا العائل ووجودها لا يضر بالغشاء الخلوى والتفرعات الشجيرية هي التي يتم من خلالها عملية تبادل المواد الغذائية بين كل من الفطر والنبات(الكربوهيدرات والأحماض الأمينية من النبات للفطر والفوسفات والعناصر المعدنية من الفطر للنبات) وهي توجد بطبقة القشرة وتتكون بعد عدة أيام من غزو الفطر لجذور العائل وتتحلل بعد أسبوعين إلي ثلاثة ليتكون بدلاً منها ، هيفات الفطر المتصلة بجذر النبات العائل أو الممتدة فى التربة بعيداً عن الجذور تعمل كشبكة إضافية من الشعيرات الجذرية وتنقل العناصر الغذائية من التربة إلى التفرعات الشجيرية للفطر داخل قشرة جذر العائل ومنها إلى أجزاء النبات المختلفة.

أما الأوعية Vesicles فهي عبارة عن انتفاخات متصلة بهيفات الفطر بيضاوية الشكل أو مستديرة وهي طرفية الموضع وأحيانا بينية توجد بين خلايا القشرة أو بداخلها وتعمل الأوعية كأعضاء تخزين وتتميز بأنها غنية في محتواها من

الليبيدات وفي جذور الخلايا المسنة تتحول إلي جراثيم تخرج إلي التربة عند تحلل الجذور.



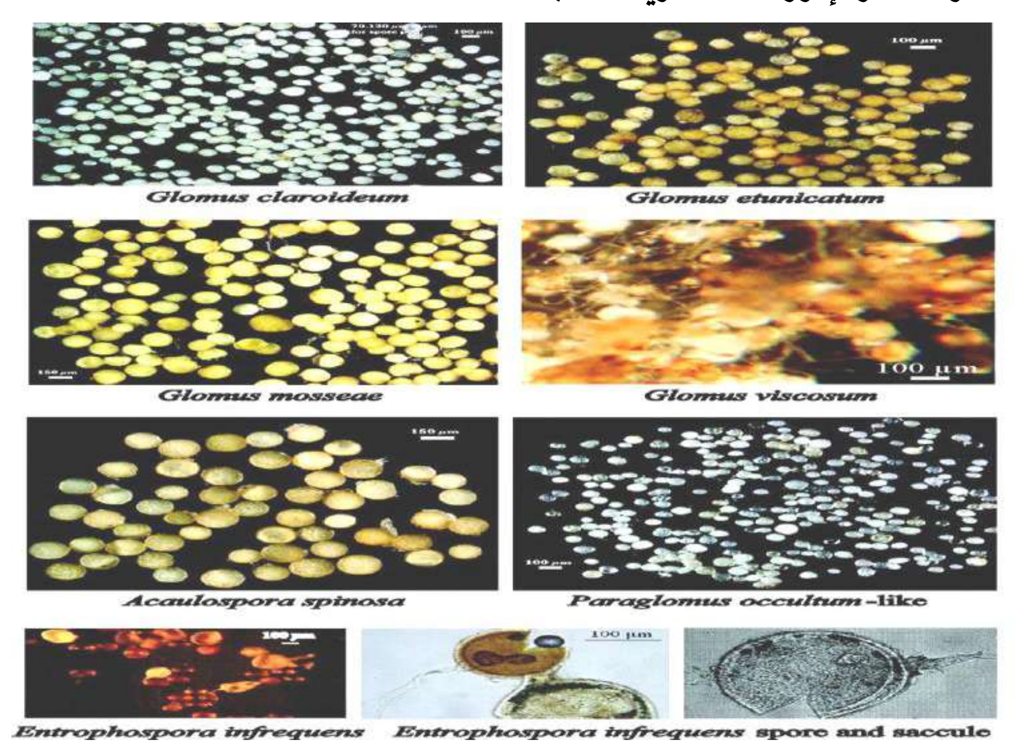
شكل ١ (١) – ٨ : رسم تخطيطي يوضح التفرعات الشجيرية التي تكونها فطريات الميكوريزا داخل خلية العائل

وتنتمي فطريات هذه المجموعة إلي الفطريات الزيجية **Zygomycotina** التي تضم رتبتين الأولى **Endogonales** والجنس النموذجي لهذه العائلة هو ***Endogone*** والرتبة الثانية **Glomales** التي تضم أجناس ***Sclerocystis, Glomus, Entrophospora Acaulospora, Scutellospora*** **and** ***Gigaspora*** وينتج الجنس الأول والثاني (***Glomus*** **and** ***Sclerocystis***) جراثيما كلاميدية فقط في حين تكون الأربعة أجناس الأخرى جراثيم لازيجية **Azygospores** ويتم التمييز بين هذه الأجناس عموما على أساس خصائص الجراثيم والعلاقة بين الجرثومة والهيفا المتصلة بها.

ويسود تواجد جراثيم الـ **VA-mycorrhizeae** في عديد من الأراضي وهي ذات أحجام كبيرة فقد يصل قطرها إلي ٥٠٠ ميكرومتر حسب النوع لذلك فيمكن عزلها من التربة بمناخل ذات سعة ثقوب مناسبة ويطلق علي هذه الطريقة المبتلة **Wet sieving** وهي الطريقة الشائعة للحصول علي لقاح للتجارب العملية ولا يستطيع أى

من فطريات هذه المجموعة أن يعيش مترمماً بعيدًا عن العائل إلا لفترة محدودة حيث أنها تعتبر Obligate symbiotic أي إجبارية التكافل .

تبدأ الإصابة للجذور عند إضافة لقاح الميكوريزا للتربة وقت الزراعة في الأسابيع الأولى من عمر النبات عندما تتفتح أوراقه ويزداد نشاطه التمثيلي والجذور عادة ما تصاب بواسطة الهيفات الموجودة بالجذور المجاورة أو من الجراثيم المضافة للتربة ، تنبت الجراثيم معطية أنبوبة إنبات واحدة أو عدد قليل من الأنابيب التي تنمو خلال التربة حتى يصبح بينها وبين سطح الجذر بضع ملليمترات حيث تتفرع لتعطي هيفات وعندما تلامس قمة الهيفات سطح الجذر فإنها تنتفخ لتعطي عضو التصاق Appressorium والذي من خلاله تقوم الهيفا باختراق الجذر من منطقة القشرة حيث تنتشر بين الخلايا وخلالها ، وعموماً يتركز وجود الهيفات في منطقة القشرة وتؤدي إصابة الجذور بهذا النوع من الميكوريزا إلي زيادة طفيفة في سمك طبقة القشرة وزيادة في تفرع الشعيرات الجذرية الدقيقة مع تغير طفيف في اللون إلي أصفر مخضر لإفراز تلك الفطريات لصبغات خاصة.



شكل١ (١)- ٩ :أشكال بعض جراثيم فطريات الميكوريزا

٢- الميكوريزا الخارجية Ectomycorrhizeae

وهي التي ترتبط بالأشجار والشجيرات التي تعيش في المناطق التي يكون النمو فيها موسميا وقد وجد أحد العلماء أن ٣٪ فقط من النباتات الزهرية تتكافل مع الميكوريزا الخارجية ولكنها تتضمن أنواعا تسود في مناطق عديدة.

والصفة الأساسية التي تميز الميكوريزا الخارجية هي شكل الإصابة علي قمة الأفرع النهائية للجذور أو بمعني أخر المناطق المسئولة عن الامتصاص بالمجموع الجذري والتي تنتج الشعيرات الجذرية في الجذور غير المصابة فبدلا من ذلك نجد أن هذه المناطق تغطي بغلاف من الأنسجة الفطرية يصل سمكه من ٢٠-٤٠ ميكرومتر والذي يحيط أيضا بقمة الجذر وتمتد الهيفات الفطرية من الغلاف لداخل الجذر في منطقة القشرة علي صورة تفرعات معقدة تعرف بالشبكة Harting net والتي تمر بين الخلايا دون اختراقها وهذه القمم الجذرية المصابة تعرف بالـ Ectomycorrhizal organs والتي تصل نسبة الفطر بها إلي ٢٥٪ من الوزن الجاف في أشجار الصنوبر، ٤٠٪ في أشجار الزان وتمتد بعض الهيفات خارجيا من الغلاف للتربة. وتتميز الـ Ectomycorrhizal organs بأنها أكثر سمكا وهشة بدرجة أكبر كما أنها ملونة بصورة تميزها عن الجذور غير المصابة وهي تعطي تفرعات كثيرة محدودة النمو وتتميز هذه الأعضاء في أشجار الصنوبر بأنها تعطي تفرعات ثنائية.

ومن الأجناس التي تتبع هذه المجموعة *Boletus, Lactarius* and *Amanita* وكذلك *Elaphomyces* ولقد وجد أن معظم الأجناس الفطرية التي تتكون تحت سطح الأرض مثل الكمأة Truffles والتي توجد في غابات الأشجار الخشبية تتكون بفعل فطريات الميكوريزا الخارجية والفطريات الزيجية التي تكون هذا النوع من الميكوريزا تنحصر في الأنواع التابعة لجنس *Endogone* فقط.

ويمكن تنمية معظم أنواع الميكوريزا الخارجية علي البيئات المعملية وهي بطيئة النمو وذات احتياجات معقدة من الفيتامينات والأحماض الأمينية كما أنها غير قادرة علي تكسير المواد السليولوزية مما يجعلها غير قادرة علي أن تنمو بصورة مترممة بعيدا عن عوائلها.

العـدوى Infection

تحدث الإصابة للجذور مع بداية نمو الشتلات حيث تشجع إفرازات جذور العائل إنبات جراثيم فطر الميكوريزا ثم يتكون نسيج من الهيفات الفطرية حول المجموع الجذري وتحدث الإصابة في المنطقة التي يبدأ عندها تميز أوعية الخشب الأولية في المنطقة التي تلى قمة الشعيرة الجذرية مباشرة حيث تخترقها الهيفات لتتواجد بين الخلايا وتتفرع لتكوين الـ Harting net والتي ينحصر وجودها في طبقة القشرة الخارجية وأحياناً يمتد للداخل ولكنها لا تخترق الأندودرمس وما خلفها وعلي عكس الإصابة التي تحدثها الفطريات الممرضة فإن فطريات الميكوريزا تطيل من حياة خلايا القشرة المجاورة لها.

تأثير الميكوريزا علي العائل النباتى

أظهرت كثير من الدراسات التي أجريت علي النباتات المصابة بالميكوريزا المكونة للأوعية والتفرعات الشجيرية VA-mycorrhizas وكذلك الميكوريزا الخارجية Ectomycorrhizas أنها غالباً ما تكون كمية أكبر من المادة الجافة بالإضافة إلي زيادة محتواها من العناصر الغذائية مقارنة بالنباتات غير المصابة ، كما وجد أيضاً أن النباتات المصابة بالميكوريزا تكون نسبة المجموع الجذري : المجموع الخضري فيها أقل من تلك غير المصابة ولكن وزن المجموع الجذرى للنبات المصاب يكون أكبر ويرجع ذلك لزيادة الوزن الجاف الكلى للعائل النباتي .

ويعزي التأثير الإيجابي للميكوريزا علي العائل النباتي إلي أن هيفات الفطر المتصلة بالجذر والممتدة بالتربة تعمل كشبكة إضافية من الشعيرات الجذرية تنقل الماء والعناصر الغذائية من التربة إلي التفرعات الشجيرية بالفطر داخل قشرة جذر العائل ومنها إلي أجزاء النبات المختلفة . ولقد وجد أن الميكوريزا أكثر تأثيرا علي امتصاص العناصر الغذائية التي تتحرك أيوناتها ببطء إلي المجموع الجذري مثل أيونات الفوسفات والأمونيوم ويزداد تيسر الفوسفور للنبات بما تفرزه الميكوريزا من إنزيمات مثل الفوسفاتيز أو بالقدرة العالية للهيفات علي الوصول لأيونات الفوسفات مقارنة بالشعيرات الجذرية وكذلك تشجيعها لجذور العائل علي إفراز الأحماض

و CO_2 الذي يزيد من ذوبان الفوسفات، والدور المميز لفطريات الـ VA-mycorrhizas في هذا المجال يزيد من أهميتها في أراضى حوض البحر الأبيض المتوسط وأراضى المناطق تحت القلوية حيث ارتفاع رقم الـ pH ونسبة كربونات الكالسيوم والقدرة العالية علي تثبيت الفوسفور تجعل هذا العنصر يتحول إلي صورة غير صالحة لامتصاص النبات علاوة علي أن درجات الحرارة المرتفعة نسبياً تزيد من نشاط الفطريات بهذه الأراضى عن أراضى المناطق المعتدلة الحرارة أو الباردة. أما بالنسبة للنتروجين فقد أظهرت الدراسات العلمية التي أجراها العلماء باستخدام ^{15}N أن معدلات تدفق النيتروجين خلال هيفات VA-mycorrhizas تشابه تلك الخاصة بالفوسفور ، كما أن الإصابة بالميكوريزا تزيد من نشاط إنزيم الـ Glutamine synthetase وهذا الإنزيم معروف بقابليته العالية للارتباط بالأمونيا وبالتالى قد يلعب دوراً هاماً في امتصاص الأمونيا بواسطة الفطريات، وقد لوحظ أن بعض النباتات المصابة بفطر الميكوريزا قد زاد محتواها من الزنك عندما نميت في أراضى فقيرة في هذا العنصر وتزيد هذه الفطريات أيضا من امتصاص النبات لبعض العناصر الأخرى مثل البوتاسيوم والنحاس والكبريت وبعض العناصر الثقيلة.

كما وجد أن فطريات الميكوريزا يمكن أن تسود في منطقة الريزوسفير إلي الحد الذي يجعلها تمنع نمو الفطريات الأخرى ويعتقد أن هذه الفطريات قد تنتج مواداً طبيعية تضاد الفطريات الأخرى Antagonistic substances كما أن وجود الـ VAMبالجذور يقلل من إصابتها بالمسببات المرضية وذلك إلي قدرة هذه الفطريات علي:

أ- إحداث تغيير في تركيب إفرازات جذور العائل خاصة بزيادة محتواها من الأرجنين.

ب-زيادة سمك الجدر الخلوية لمنطقة القشرة بالجذر.

جـ- تعويض ما قد يصاحب الإصابة بالكائن الممرض من إفراز بالمجموع الجذرى من خلال إمداده بالعناصر الغذائية.

وتستطيع بعض فطريات الميكوريزا الخارجية مثل عديد من الفطريات الأخرى إنتاج منظمات النمو النباتية تحت الظروف المعملية ومن أمثلة هذه المواد إندول حمض الخليك ، الإيثيلين ، وأيضا إنتاج مواد تشبه السيتوكينين في الفعل

الفسيولوجي وقد يعزي إلي منظمات النمو هذه أنها هي المسئولة عن التغيرات المورفولوجية والفسيولوجية في الجذور النباتية نتيجة الإصابة.

مما سبق يتضح أن فطريات الميكوريزا تلعب دوراً مهماً في زيادة خصوبة التربة الزراعية وزيادة إنتاجية المحاصيل بسبب ما يلي :

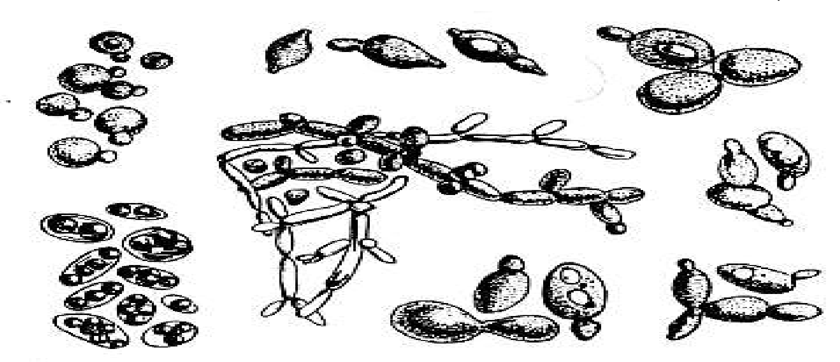
١- تزيد هذه الفطريات من مساحة سطح المجموع الجذري.
٢- تقوم هذه الفطريات بإفراز إنزيم الفوسفاتيز والذي يزيد من تيسر الفوسفات العضوية.
٣- للميكوريزا تأثير منشط علي امتصاص العناصر الأخرى غير الفوسفور مثل النيتروجين والعناصر الصغري.
٤- تزيد هذه الفطريات من قدرة النبات علي امتصاص المياه بسبب زيادة سطح المجموع الجذري.
٥- تزيد من قدرة الجذور علي إفراز الأحماض العضوية وثاني أكسيد الكربون مما يؤدي إلي زيادة تيسر العناصر الغذائية في التربة.
٦- لها القدرة علي إفراز بعض المواد المنشطة للنمو مثل الأوكسينات والجبريللينات والسيتوكينينات.
٧- تؤدي إلي حماية النباتات من بعض الأمراض المحمولة في التربة Soil borne diseases.
٨- تعمل الميكوريزا علي تجميع حبيبات التربة.
٩- يمكن استخدامها كلقاح مذيب للفوسفات في الأراضي الملحية حيث وجد أنها تتحمل تركيزات عالية من الملوحة.

رابعاً: الخمائر Yeast

ليس لاصطلاح الخمائر في الحقيقة أي أهمية تقسيميه ولكن يعني عموما مجموعة الفطريات التي توجد أساساً علي صورة خلايا مفردة تتكاثر بالتبرعم أو الانقسام، ويوجد مجموعتين كبيرتين من الخمائر الأولى تشتمل علي الأنواع التي تنتج جراثيم أسكية، بينما الثانية لا تكون أفرادها مثل هذه الجراثيم الجنسية ومن أكثر الأجناس انتشارًا في التربة ما يلي:

Candida, Cryptococcus, Hansenula, Lipomyces, Pichia, Rhodotorula, Saccharomyces, Torula **and** ***Torulopsis.***

وتتحمل بعض الأنواع من الخمائر تركيزات عالية من السكريات وتتميز بكفاءة عالية في تخمير الكربوهيدرات.



شكل١ (١)- ١٠ : بعض أشكال الخمائر

يتأثر انتشار هذه الكائنات وأعدادها لدرجة كبيرة بالمنطقة تحت الدراسة ومن المعتاد وجودها بأعداد تتراوح من ٢٠٠ - ١٠٠,٠٠٠ في الجرام من التربة الخصبة وعموماً تلاحظ الخمائر بكثافة عددية أكبر من 10^3 لكل جرام في المناطق الباردة ، كما أنها توجد بأعداد مماثلة في أراضى المنطقة القطبية الجنوبية والمراعي والحقول المنزرعة والغابات ، وفي بعض الأحيان توجد هذه الكائنات بأعداد غزيرة علي جذور بعض النباتات ، ومع هذا فلم يعرف حتى الأن مدى ارتباط كثافة هذه الميكروبات بالعوامل البيئية المختلفة أو الدور الذي تقوم به في تحولات التربة ، ولقد اتضح أن الخمائر لها القدرة علي تحليل بعض المواد البروتينية وإنتاج الأمونيا وتحليل النشا وإنتاج أحماض عضوية وليست للخمائر القدرة علي تحليل السليولوز أو تثبيت أزوت الهواء الجوي.

خامساً: الطحالب Algae

تنتشر الطحالب في كل الأراضي تقريبا وأعداد هذه الكائنات لا يصل إلي الأعداد التي توجد بها البكتريا والأكتينوميسيتات والفطريات، ونظراً لقلة أعدادها فإنها لم تحظ بقدر كاف من الاهتمام بالإضافة لاحتياجها لقدر كافي من أشعة الشمس حتى يمكنها القيام بعملية التمثيل الضوئي، كل هذا دعا علماء الميكروبيولوجيا

الأوائل للاقتناع بعدم أهمية الطحالب في التربة إلا أن الدراسات الحديثة أدت إلي الإلمام بكثير من المعلومات المتكاملة عن صفاتها البيئية وأهميتها في التربة، ويوجد الطحالب الخضراء Chlorophyceae والدياتومات Bacillariophyceae والطحالب الخضراء المصفرة (الذهبية) Xanthophyceae .

تتميز الطحالب باعتمادها في تغذيتها علي التغذية الذاتية الضوئية مستخدمة في ذلك الكلوروفيل الذي يمكنها من الاستفادة من الضوء كمصدر للطاقة ويساعد مثل هذا النوع من التغذية علي استقلال هذه الكائنات وعدم احتياجها للمواد العضوية التي تحد من نشاط الكائنات غير ذاتية التغذية في الطبيعة، ولمعيشة الطحالب ذاتيا في التربة يلزم أن يتوفر بالتربة الماء والنيتروجين والبوتاسيوم والفوسفور والماغنسيوم والكبريت والحديد وكميات قليلة جدًا من العناصر النادرة وعلي أن تحصل هذه الطحالب من الجو علي الكربون اللازم لها علي صورة CO_2 ومن الضوء تستمد الطاقة اللازمة.

أهمية الطحالب Importance of Algae

لا تعتبر الطحالب من الكائنات التي تسهم بدور فعال في التفاعلات الكيميائية الحيوية التي تحدث في التربة وينتج عنها خصوبة التربة ويستثني من ذلك أراضى الأرز وذلك لأنه تحت ظروف المنافسة القوية التي تلقاها هذه الكائنات خاصة تحت سطح التربة من البكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات يجعل دور الطحالب التي تأقلمت علي ظروف التغذية غير الذاتية في التفاعلات الحيوية بالتربة محدوداً ، إلا أن الطحالب التي تقوم بعملية التمثيل الضوئى يكون لها دور هام وفريد ومؤثر في أوساطها البيئية.

ويرجع الدور الأساسى للطحالب خاصة التي تعيش في الطبقات السطحية للتربة إلي قيامها بعملية التمثيل الضوئى حيث تحول ثاني أكسيد الكربون إلي مواد كربونية ، وبالتالى فإن الطحالب تعتبر مسئولة عن زيادة الكربون العضوي في البيئة التي تعيش فيها، وكمية هذه الإضافة إلي الأراضي الزراعية لم يقدر بدقة ،كما أنها تعتبر المسئولة عن تخليق الكربون العضوي لأول مرة عند نموها في المناطق القاحلة المعراة والمجروفة،تنمو الطحالب وتغطي أسطح الصخور مما يؤدي إلي تأكل

وتجوية هذه الصخور ، ونتيجة لموت خلايا الطحلب تتوفر المادة العضوية التي تشجع نمو الأنواع المختلفة من البكتريا وأحيانا بعض الفطريات وبذلك يكون ظهور هذه الكائنات في المرحلة التالية لنمو الطحالب، وترجع عملية تجوية الصخور حيويا إلي تكون حمض الكربونيك من CO_2 الناتج من تنفس الطحالب أو النواتج التي تنشأ من تحليل البكتريا والفطر للمادة العضوية الناشئة عن بروتوبلازم الطحالب، هذا بالإضافة إلي أن الأشنات وهي إحدي صور المعيشة التعاونية بين الطحالب والفطريات وتفرز أثناء نموها بعض المركبات التي تلعب دوراً هاماً في عمليات التجوية.

سادساً:الحيوانات الأولية "البروتوزوا" Protozoa

تعتبر البروتوزوا من الأحياء الدقيقة الحيوانية. تتكون دورة حياة العديد من البروتوزوا من مرحلة نشطة Trophosite حيث تتغذى هذه الكائنات وتتكاثر أثنائها ومرحلة سكون حيث تتحوصل وتكون حويصلات تسمي Cyst يتكون فيها غلاف سميك يحيط بخلاياها ، والطور الساكن لكثير من أنواع البروتوزوا له المقدرة علي مقاومة الظروف البيئية غير المناسبة لسنوات عديدة ، وتتكاثر البروتوزوا عادة لاجنسياً بانقسام الخلية الأم طولياً أو عرضياً إلي خليتين ومن النادر حدوث التكاثر الجنسي إلا أن هناك بعض الأنواع تتكاثر جنسياً.

تقسيم البروتوزوا Taxonomy of protozoa

تقسم أنواع بروتوزا التربة حسب حركتها إلي ثلاث مجموعات:

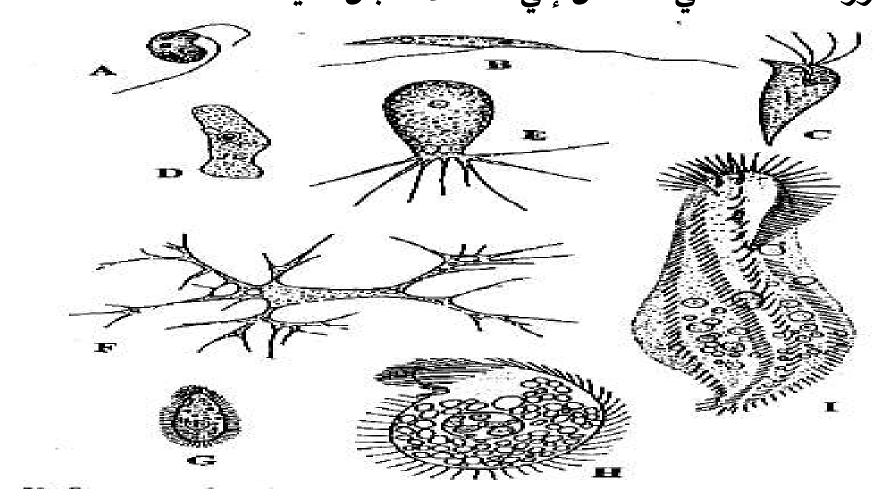
(أ) مجموعة السوطيات Mastigophora or Flagellates وهذه الأنواع تتحرك بالأسواط.

(ب) السركودينا Sarcodina وأحياناً تعرف Rhizopods or amebae وهذه الأنواع تستخدم الأقدام الكاذبة في حركتها.

(جـ) الهدبيات Ciliophora or Ciliates Ciliata وتتحرك بواسطة الأهداب التي تحملها طوال فترة حياتها النشطة.

وتتميز أفراد مجموعة السوطيات بوجود واحد إلي أربعة أسواط علي كل خلية وأحيانا توجد بعض الأفراد تحمل عددا أكثر من ذلك، والأنواع الأرضية صغيرة الحجم فيتراوح طولها من ٥ إلي ٢٠ ميكرومتر.

وتمثل مجموعة **Euglena** أهم السوطيات الشبيهة بالطحالب ، وتتحرك أفراد مجموعة السركودينا بواسطة الأقدام الكاذبة وهي بروزات بروتوبلازمية مؤقتة تمتد من الخلية وهى لا تمتلك أعضاء حركة ثابتة ولذلك نجد أن أشكال أفراد هذه المجموعة دائمة التغير لعدم وجود جدار خارجي صلب، ويوجد نوعان من السركودينا أو أميبا التربة يتميز أولها بوجود ما يشبه الصدفة ويحيط بالخلية وتخرج الأقدام الكاذبة من فتحات محددة أما النوع الأخر فيفتقد هذا التركيب الصلب، أما الهدبيات فإنها تتحرك نتيجة لاهتزاز الشعيرات المحيطة بخلاياها ، وتتميز هذه الشعيرات بقصرها وغزارة أعدادها التي قد تصل إلي عدة ألاف بكل خلية.



شكل١ (١)–١١: الأشكال المختلفة للبروتوزوا

التغذية في البروتوزوا

البروتوزوا من الكائنات الملتهمة **Holozoic** وتعتبر البكتريا وغيرها من الكائنات الحية الدقيقة من أهم الكائنات التي تلتهمها البروتوزوا ولو أنه أحياناً تلتهم بعض البروتوزوا خلايا من نفس النوع، ويمكن أن تعيش البروتوزوا بالترمم على المواد العضوية الميتة **Saprozoic**.

ويمكن توضيح كيفية تغذية الأميبا بالتهام البكتريا بتلقيح تربة معقمة بمزارع نقية من كل من البروتوزوا والبكتريا ودراسة التغيرات العددية بها، فنجد أنه في البداية تأخذ أعداد البكتريا في الزيادة حتى تصل أقصاها بعد أسبوع في حين يندر وجود الأميبا النشطة في هذه الفترة ويتبع ذلك زيادة واضحة في أعداد الأميبا ونقصان ظاهر في البكتريا وذلك نتيجة لالتهام الأميبا للبكتريا، ويلزم البروتوزوا المفترسة أن تلتهم أعداداً كبيرة من البكتريا حتى يمكنها أن تخلق البروتوبلازم اللازم لعملية الانقسام، فمثلا وجد أن أنواعاً من ***Sarcodina*** تستهلك عدة آلاف (حوالى ٤٠.٠٠٠) خلية بكتيرية لتنقسم انقساماً واحدا.

أهمية البروتوزوا في التربة

بالرغم من انتشار البروتوزوا الواسع في التربة وتواجدها بأعداد كبيرة إلا أن الدور الذي تقوم به لا يعرف عنه إلا القليل ، والدور الأساسى المعروف عن هذه الكائنات وهو قيامها بتنظيم حجم المجتمع البكتيري في التربة مبني علي طبيعة تغذيتها في بيئات إكثارها والدليل علي التأثير المباشر للبروتوزوا علي البكتريا مبنى علي ما بينته بعض الدراسات التي أضيف فيها أعداد كبيرة من البكتريا للتربة ثم وجد تحت ظروف التجربة أن البروتوزوا هي المجموعة الوحيدة من كائنات التربة التي صاحب زيادة أعدادها تناقص سريع ومفاجئ في أعداد الأنواع البكتيرية المضافة ، وعند تناقص أعداد البكتريا التى تتغذى عليها البروتوزوا فإنها تدخل فى مرحلة تحوصل وتبقى ساكنة حتى تتحسن الظروف ، ويعتقد أن البروتوزوا تلعب دوراً هاماً فى تحولات بعض العناصر الغذائية الموجودة بالتربة مثل تحلل المواد العضوية المحتوية على الفوسفات ،

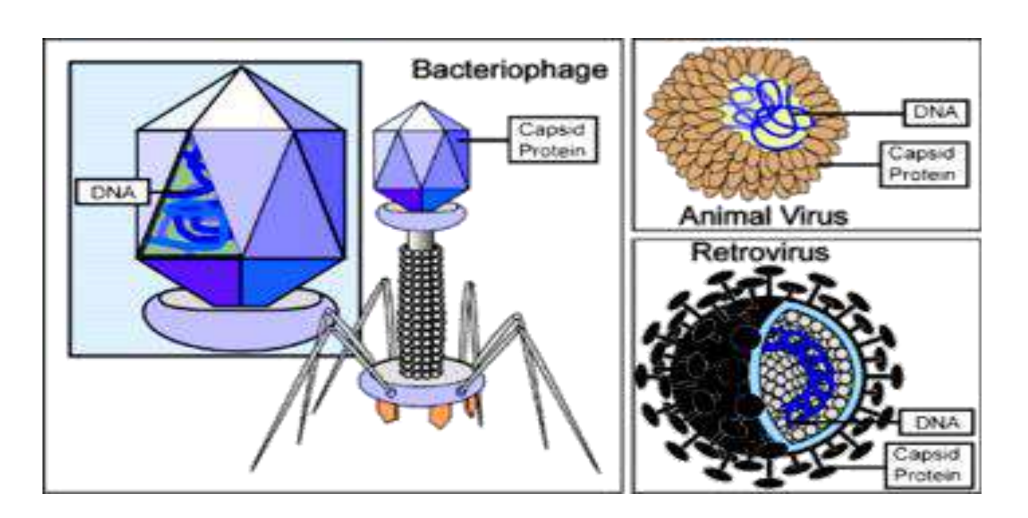
سابعاً: الفيروسات Viruses

الفيروسات مجموعة من الجسيمات متناهية في الصغر والتى تعيش على هامش الحياة ولاترى إلا بالميكروسكوب الإلكترونى ، وتتميز هذه المجموعة بأنها لا تتضاعف إلا في وجود العائل المناسب لأنها إجبارية التطفل ، وللفيروسات أهمية اقتصادية وطبية لما تسببه من أمراض للنبات والحيوان والإنسان، أيضاً تستطيع أن

تطفل علي كل الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتريا والأكتينوميسيتات والفطريات والطحالب.

وكل جزئ فيروس يحتاج لتضاعفه إلي وجود عائل حي كمركز لتمثيله الغذائى وفي غياب مثل هذا العائل من النادر أن ينشط أو يتضاعف، وتقتصر الفيروسات في تطفلها علي نطاق محدود من العوائل بمعني أنها تتطفل علي أفراد معينة من النباتات أو الحيوانات أو الكائنات الحية الدقيقة، وقد أدي هذا التخصص في الإصابة إلي تقسيم الفيروسات حسب عوائلها إلي مجموعات الأولى ممرضة للنباتات phytophages والثانية ممرضة للحيوانات Zoophages والثالثة ممرضة للكائنات الحية الدقيقة.

وتشتمل جزيئات المجموعة الثالثة علي الفيروسات التي تصيب البكتريا Bacteriophages وكذا التي تصيب الأكتينوميسيتات Actinophages والفطريات Mycophages والطحالب Cyanophages ، ويتكون جزيء الفيروس من نيوكليوبروتين (بروتين وحمض نووي) قد يكون الحمض النووي RNA أو DNA.



شكل١ (١)-١٢ : الشكل الخارجى لبعض الفيروسات

وتتميز الفيروسات لحد كبير بنطاق عوائلي ضيق حتى بالنسبة لأجناس وأنواع الكائنات الدقيقة التي يصاب بعض أفرادها بالفيروس لذلك فهي تتميز

بالتخصص في الإصابة ، وعادة فإن الفيروس الذي له القدرة علي إصابة أفراد ممثلة لجنس ما يكون عديم التأثير علي جنس أخر قريب له من حيث النشأة، ولقد عرف عن بيئة البكتريوفاجات أكثر مما عرف عن بقية أنواع الفيروسات التي تتطفل علي الكائنات الموجودة بالتربة ، وتتشابه البكتريوفاجات مع مثيلاتها من الفيروسات النباتية والحيوانية في كونها صغيرة الحجم لدرجة تمكنها من المرور بدون صعوبة خلال مرشحات دقيقة جداً ومصممة لحجز الخلايا البكتيرية تعرف بالمرشحات البكتيرية ، ومن حيث الشكل الخارجي فإن البكتريوفاج يتكون من رأس وذيل، ونادرا ما يتعدي قطر البكتريوفاج عن ٠,٠٥ إلي ٠,١ ميكروميتر والذيل كبير لحد ما فطوله حوالى ٠,٠٢ ميكروميتر ولكنه أدق سمكا.

وبتتبع دخول البكتريوفاج إلي داخل الخلية البكتيرية نجد أن الذيل هو نقطة الالتصاق، وبعد الدخول تأخذ خلايا العائل في التحلل فإذا كانت البكتريا نامية علي الأجار فإننا نلاحظ منطقة التحلل علي هيئة مساحة رائقة تعرف Plaques أما في البيئات السائلة فيستدل علي العدوي بانخفاض في عكارة المعلق البكتيري كلما زاد التحلل ، ويصاحب تحلل الخلايا زيادة واضحة في أعداد جزيئات البكتريوفاج وانخفاض شديد في أعداد البكتريا الحية بالبيئة.

ولتنقية الفيروسات يمرر معلق الخلايا البكتيرية المتحللة خلال المرشحات البكتيرية التي تحجز الخلايا الحية وبقايا التحلل، وعملية الإكثار من البكتريوفاج عملية سهلة حيث أن تحلل خلية بكتيرية واحدة مصابة غالبا ما يؤدي إلي خروج مئات عديدة من جزيئات الفيروس ويكون لكل منها القدرة علي إحداث عدوي جديدة، وعلي هذا فاستخدام تركيزات عالية من البكتريا يمكن من الحصول علي أكثر من $١٠^{١٠}$ جزئ من جزيئات البكتريوفاج في كل مللي لتر من المزرعة.

ولكي يتم التعرف علي وجود بكتريوفاج معين في التربة تحضن عينة من التربة مع العائل البكتيري حتى تتهيأ الظروف لزيادة أعداد الفيروس موضع الدراسة، ثم تضاف كمية قليلة من تلك العينة المعاملة إلي وسط غذائى سبق تلقيحه بالعائل ، وبعد ٢٤-٤٨ ساعة يرشح المعلق البكتيري خلال مرشح بكتيري معقم ثم يختبر

مقدرة الراشح علي إحداث التحلل لمزرعة بكتيرية حديثة وسريعة النمو، وباتباع هذه الطرق أمكن التعرف علي أنواع الفيروسات المتخصصة في إصابة ما يلي:
Agrobacterium, Arthrobacter, Azotobacter, Bacillus, Bdellovibrio, Clostridium, Corynebacterium, Erwinia, Mycobacterium, Pseudomonas, Rhizobium, Xanthomonas, Nocardia **and** ***Streptomyces*** **.**

ومن أهم مجموعات البكتريوفاجات التي يحتمل أن يكون لها أهمية زراعية تلك التي لها المقدرة علي تحليل البكتريا المكونة للعقد علي جذور النباتات البقولية ، هذه البكتريا التابعة لجنس ***Rhizobium*** تعمل تكافليا مع البقوليات علي تحويل النيتروجين الجوي إلي صورة صالحة لاستخدام النبات ولذا فإن إصابة البكتريا داخل العقد الجذرية بالفيروس يتسبب عنه خسارة اقتصادية، ويمكن عزل البكتريوفاجات المتخصصة لأنواع ***Rhizobium*** مباشرة من التربة أو من جذور عدد من أنواع البقوليات .

لقد اقتصر ذكرنا علي الفيروسات البكتيرية المحللة **Lytic phage** التي تحلل بشدة خلايا العائل والتي ينتج عنها خروج أعداد كبيرة من جزيئات البكتريوفاج وهي البكتريوفاجات المحللة أو النشطة في إحداث المرض. ومع هذا فإنه أحيانا ما تحمل خلايا العائل جزئ الفيروس بداخلها ويتم انتقاله إلي الخلايا الحديثة التى نتجت عن انقسامها والمتكونة منها دون حدوث أى تحلل ظاهر ولكن قد تخرج من الخلايا بعض جزيئات البكتريوفاجات الحرة من حين لأخر، وتعرف مثل هذه البكتريوفاجات بالبكتريوفاجات المعتدلة **Temperate phage** وتعرف هذه الظاهرة باسم الليسوجيني **Lysogenicity** والخلايا الحاملة تعرف بالخلايا الليسوجينية **Lysogenic bacteria.**

ولقد وجد أن العديد من الأكتينوميسيتات تعتبر **Lysogenic** والكشف عن الخلايا **Lysogenic** من الصعوبة بمكان نظراً لأن تحللها لا يظهر علي الفور ويلزم للتعرف علي مثل هذه السلالات أن تمزج مع سلالة أخرى حساسة تعرف بالسلالة الدليل حيث تهاجمها الفيروسات التي تحملها السلالة الأولي، ويطلق على جينوم

الفيروس المندمج بكروموسوم خلية العائل البروفاج **Prophage** حيث ينتقل مع نواة الخلية عند انقسامها كجزء من تركيبها الوراثى ولذلك يستخدم البروفاج فى نقل الصفات الوراثية من بعض البكتريا إلى بكتريا أخرى .

أما جزئ الفيروس الكامل الذي له القدرة على إحداث العدوى ويلتصق بجدار خلية العائل فيطلق علية الفيريون الكامل **Complete virion** وهو الصورة الوحيدة التي يمكن عزلها من الفيروسات.

ولقد أوضحت الدراسات المتتالية أن هناك فيروسات تصيب الفطريات وتسمى **Mycophages** ومن ضمن العوائل التي تم التعرف عليها بعض الأنواع التابعة لأجناس ***Aspergillus, Boletus, Cephalosporium, Fusarium, Gliocladium, Mucor, Ophiobolus, Polyporus, Penicillium*** **and** ***Rhizopus*** وعديد من الأجناس الفطرية الأخرى. وتختلف هذه الفيروسات من حيث الشكل الخارجي عن البكتريوفاجات فلا يوجد بها الذيل المميز لمجموعة البكتريوفاجات.

ويختلف تأثير هذه الفيروسات علي عوائلها في المزارع علي الأقل فبعض الأنواع لا تحدث أى أضرار في حين أن البعض الأخر يحدث نموا غير طبيعي للهيفات ويسبب شذوذًا في تكوين الأجسام الثمرية ، وأحياناً يعزي عدم تكاثر بعض الفطريات في البيئات وعدم حيويتها إلي التأثير الضار الذي تحدثه مثل هذه الفيروسات بالرغم من أن معظم هذه الفيروسات غير ممرضة لحد ما ولا تؤدي إلي تحلل العائل.

كذلك الفيروسات التي تصيب الطحالب الخضراء المزرقة **Cyanophages** والتي تتشابه مع تلك التي تصيب البكتريا من حيث تكوينها لمناطق رائقة **plaques** علي بيئات الأجار النامي عليها الطحلب العائل، وكذا في مرورها خلال المرشحات البكتيرية، وتشابهها في الشكل الظاهرى وطريقة العدوي، وتوجد هذه الفيروسات في الأنهار والبحيرات والمستنقعات والمياه المالحة كما أن هناك تقريرا يشير إلي وجود هذه الفيروسات في حقول الأرز المغمورة.

أما بالنسبة لانتشارها في التربة فإنه لم يحدد بعد، وعوائل هذه الفيروسات في المزارع تشمل *Anabaena, Anacystis Cylindrospermum, Microcystis, Nostoc, Oscillatoria, Phormidium* and *Synechococcus*.

أما عن العلاقة بين الفيروسات والكائنات الحية الدقيقة بالتربة الزراعية فقد ثبت أن الفيروسات تستطيع أن تهاجم الميكروبات التي تستخدم في مجال إنتاج المخصبات الحيوية مثل الريزوبيا والأزوتوباكتر والأزوسبيريللام والسيانوباكتريا والفرانكيا وينعكس هذا علي قلة كفاءة مثل هذه الميكروبات في عملية تثبيت الأزوت مما يقلل من خصوبة التربة ومنها:

Rhizobiophages, Azotophages, Cyanophages and *Actinophages.*

أيضاً تستطيع الفيروسات أن تهاجم بعض أنواع البكتريا أو الفطريات التي تستخدم في مجال المقاومة البيولوجية ويجب التنويه إلي أن بعض الفطريات والنيماتودا تلعب دوراً هاماً في نقل الإصابة الفيروسية.

(الباب الأول- الفصل الثانى)

دورة الكربون Carbon cycle

يعتبر الكربون أحد العناصر البالغة الأهمية للأحياء حيث أنه أساس البناء في تركيب الخلية، وتحتوى الأنسجة النباتية والخلايا الميكروبية علي نسبة عالية من الكربون تمثل حوالي ٤٠ - ٥٠٪ من وزنها الجاف تحصل عليها من CO_2 الموجودة بكمية محدودة تبلغ حوالي ٠,٠٣٪ من مكونات الهواء الجوي، ويتحول ثاني أكسيد الكربون إلي الصورة العضوية بفعل الكائنات الذاتية التغذية الضوئية وهي النباتات الخضراء الراقية علي سطح التربة والطحالب التي تعيش في الأوساط المائية والكائنات الدقيقة ذاتية التغذية الكيميائية أو الضوئية، هذه الكائنات تعتبر مصدرا لإمداد الكائنات غير ذاتية التغذية من حيوان وكائنات دقيقة لا تحتوي خلاياها علي الكلوروفيل بما يلزمها من مركبات عضوية.

حيث تقوم الكائنات القادرة علي القيام بعملية التمثيل الضوئي بتثبيت الكربون في الصورة العضوية مستخدمة في ذلك الطاقة الضوئية، وبمجرد أن يتحول الكربون إلي الصورة المرتبطة فإنه يصبح غير صالح لتغذية النباتات، لذلك فإنه من الضروري أن تتحلل المواد العضوية ويتحول كربونها العضوي إلي CO_2 الذي ينطلق مرة أخرى إلي الهواء الجوي لضمان استمرار الحياة للكائنات الراقية مثل النباتات.

ويعتبر ثاني أكسيد الكربون الذي يتكون خلال عمليات التمثيل الغذائي للميكروبات الهوائية واللاهوائية من العوامل الضرورية ليس فقط لأنه يكمل دورة الكربون ولكن أيضا لتأثيره المباشر علي نمو بعض الكائنات، فالكائنات الدقيقة ذاتية التغذية الكيميائية أو الضوئية تستخدم CO_2 كمصدر وحيد للكربون في تغذيتها. كما أن لوجود هذا الغاز تأثيراً منشطا بل ويمكن أن يحتاج إليه الكثير من الكائنات غير ذاتية التغذية حيث من الممكن أن يقف نمو بعض الأنواع أو حتى معظمها في غيابه ، فيدخل جزء من CO_2 في تركيب الخلية حتى في الأنواع غير ذاتية التغذية.

تحلل المادة العضوية Decomposition of organic matter

من المعروف أن التركيب الكيميائي للمادة العضوية معقد للغاية وكان هذا مسار اهتمام كبير للعلماء ، فتعددت الأبحاث لدراسة تحولات المادة العضوية والكائنات المسئولة عنها، وهذه المواد النباتية التي تصل إلي التربة توفر لأنواع الميكروبات المختلفة خليطاً متنوعا من المركبات التي تتباين في خواصها الفيزيائية والكيميائية، وتنقسم المركبات العضوية الموجودة في النبات إلي سبعة أقسام رئيسية:

١- السليولوز وهو أكثر المركبات الكيميائية من حيث الوفرة وتختلف نسبته ما بين ١٥-٦٠٪ من الوزن الجاف.

٢- النشا.

٣- الهميسليولوزات وهي عادة ما تمثل ١٠-٣٠٪ من الوزن.

٤- اللجنين ويمثل في العادة ٥-٣٠٪ من وزن النبات الجاف.

٥- المكونات الذائبة في الماء والتي تشتمل علي السكريات البسيطة والأحماض الأمينية والأليفاتية وهي تمثل ٥ إلي ٣٠٪ من الوزن الجاف للأنسجة النباتية.

٦- المركبات الذائبة في الإيثير أو الكحول وهي تتضمن الدهون والزيوت والشموع وعدداً من الصبغات.

٧- البروتينات ويدخل في تركيبها النيتروجين والكبريت.

أما المكونات المعدنية والتي تقدر عادة في الرماد المتخلف عن حرق المادة العضوية، فهي توجد بنسبة تتراوح بين ١-١٣٪ من الوزن الكلي للأنسجة النباتية الجافة.

وتقل نسبة المكونات الذائبة في الماء وكذلك البروتينات والمعادن كلما تقدم النبات في العمر، بينما ترتفع نسبة السليولوز والهميسليولوزات واللجنين وهي التي تمثل المكون الأكبر من وزن النبات، وجميع هذه المركبات تشكل في مجموعها الخليط المتنوع من المواد العضوية التي تستخدمها الميكروبات حيث تقوم بتحليلها وتحول الكربون الموجود بها إلي الصورة المعدنية فى صورة ثاني أكسيد الكربون.

ومما هو جدير بالذكر أن المادة العضوية عندما تصل إلي التربة سواء من بقايا المحاصيل أو من الأسمدة العضوية أومن الميكروبات تتعرض للعديد من التفاعلات والأنشطة البيولوجية حيث تقوم كائنات التربة الدقيقة بتحليلها بهدف الحصول علي الطاقة وبناء خلاياها.

تمثيل الكربون Carbon assimilation

يوجد وظيفتان رئيسيتان لتحلل المادة العضوية وهما توفير الطاقة للنمو والإمداد بعنصر الكربون اللازم لتكوين مادة الخلية الجديدة، وبذلك يتحقق الهدف الأساسي للميكروبات التي تعيش في التربة من احتجاز للطاقة والحصول علي الكربون لتخليق مواد الخلية. وخلال مراحل نمو الميكروبات فإن هناك إنتاجاً لبعض المركبات التي تفرزها الخلايا مثل ثاني أكسيد الكربون والميثان والأحماض العضوية والكحولات.

وتصل نسبة الكربون إلي حوالي ٥٠٪ من وزن الخلايا في معظم الكائنات الدقيقة وهي تحصل عليها من المادة العضوية التي تقوم بتحليلها ، وتحويل الكربون في المادة العضوية إلي كربون البروتوبلازم يعرف بعملية التمثيل Assimilation ، وتحت الظروف الهوائية فإنه عادة ما يتم تمثيل ٢٠-٤٠٪ من كربون المادة العضوية والباقي ينطلق في صورة CO_2 أو يتراكم في صورة مخلفات التمثيل الغذائي.

وتعتبر الفطريات أكثر كفاءة من غيرها من الميكروبات في عمليات التمثيل الغذائي. والمقصود بكفاءة الميكروب هنا هو مقدرته علي تحويل كربون المادة العضوية إلي كربون خلوي ويتم حسابه بتقدير النسبة المئوية لكربون الخلية المتكون إلي كربون المادة المستهلك، فكلما زادت كفاءة التمثيل للميكروب قلت كمية كل من المخلفات العضوية الناتجة وCO_2 المنطلق، وعلي العكس من ذلك فإن المزارع الميكروبية ذات الكفاءة القليلة تفقد معظم كربون المادة العضوية في صورة مخلفات مع تكوين كمية قليلة فقط من مادة الخلية، فالفطريات الخيطية والأكتينوميسيتات ذات كفاءة أكبر في تمثيل الكربون عن البكتريا الهوائية، أما البكتريا اللاهوائية فإنها تستخدم المواد الكربوهيدراتية بكفاءة قليلة وتنتج كميات كبيرة

من المخلفات الكربونية العضوية، وعندما تقوم الفطريات بتحليل المادة العضوية فإن ٣٠–٤٠٪ من كربون المادة يتم تمثيله واستخدامه في تكوين الميسيليوم الجديد. أما في حالة الكثير من أنواع البكتريا الهوائية الأقل كفاءة فإنها تمثل ٥ – ١٠٪ فقط من كربون المادة العضوية بينما تقوم البكتريا اللاهوائية بتحويل ٢–٥٪ فقط من كربون المادة إلي خلايا جديدة، هذه القيم تعتبر في الواقع أرقاماً تقريبية لأن هناك بعض الأنواع من البكتريا الهوائية ذات كفاءة تمثيل عالية كما أن هناك أيضاً بعض أنواع من الفطريات ذات كفاءة تمثيل منخفضة.

وفي نفس الوقت الذي يتم فيه تمثيل الكربون لتكوين بروتوبلازم جديد فإنه يحدث أيضاً تمثيلا لكميات من النيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم والكبريت، وتمثيل مثل هذه العناصر غير العضوية له أهمية كبيرة من الناحية الزراعية، ومعدل تمثيل هذه العناصر المعدنية يتحدد فقط بالكميات اللازمة لتخليق الخلية وبالتالي يتناسب طرديا مع كمية الخلايا المتكونة ، وهو بالتالي مرتبط بكميات الكربون الممثلة فتصبح نسبة كل من C:N , C:P , C:K , C:S بداخل البروتوبلازم هي العامل المحدد للكميات الممثلة من هذه العناصر.

نسبة ك: ن فى المادة العضوية C/N Ratio in organic matter

تعتبر نسبة الكربون : النيتروجين C/N ratio عاملاً رئيسيا في معدنة النيتروجين العضوي فإذا كانت هذه النسبة متسعة ، أى أن نسبة الكربون عالية بالنسبة للنيتروجين ، فمعني ذلك أن الميكروبات أثناء تحليلها للمادة العضوية وبناء خلاياها لن تجد النيتروجين الكافي، لذلك فإنها تأخذ كل النيتروجين الموجود في المادة العضوية لبناء أجسامها ولا تحدث معدنة، وإذا لم يكفيها فإنها تأخذ النيتروجين الموجود في التربة في صورة معدنية ميسرة ، وتسمي عملية تحويل النيتروجين المعدني الموجود في التربة إلي نيتروجين عضوي في أجسام الميكروبات Nitrogen immobilization وفي هذه الحالة فإن التربة تعاني نقصاً مؤقتاً في النيتروجين الصالح لتغذية النبات.

أما إذا كانت C/N ratio ضيقة أى أن المادة العضوية غنية بالنيتروجين فإن الميكروبات تجد فيها ما يكفيها لبناء خلاياها والباقي تحدث له عملية معدنة

Mineralization إلي أمونيا مما يزيد النيتروجين الذائب المعدني الصالح لتغذية النباتات.

وعادة فإن المواد العضوية الطبيعية تحتوى علي حوالي ٤٠٪ كربون، وتعتبر النسبة الحرجة للنيتروجين في مثل هذه المادة ما بين ١,٢–١,٨٪ (C/N ratio 20–30:1)، فإذا كانت نسبة النيتروجين في المادة العضوية أقل من هذا المستوي الحرج فإنه تحدث عملية Immobilization أما إذا كانت مرتفعة عنها تحدث عملية Mineralization، ولتوضيح علاقة C/N ratio بوضوح أكثر، فإنه من المعروف أن الفطريات عند تحليلها للمواد العضوية فإنها تمثل ما بين ٢٠– ٥٠٪ بمتوسط ٣٥٪ من كربون المادة العضوية في أجسامها والباقي يتحلل إلي H_2O و CO_2 أو يبقى في التربة في تركيب الدبال، والبكتريا عند تحليلها للمواد العضوية تمثل من ١–٣٠٪ من كربون المادة العضوية بمتوسط ٧٪، وعلي ذلك فإن كلاً من الفطريات والبكتريا عند تمثيلها لهذا الكربون تحتاج إلي جزء من النيتروجين لبناء أجسامها ، فإذا فرض أن نسبة الكربون إلي النيتروجين في داخل جسم الميكروب هي ١٠–١ فمعني ذلك أنه يلزم ١ جزء من النيتروجين لكل ١٠ جزء من الكربون يبنى في خلايا الميكروبات.

وحدوث Immobilization تظهر فى الفرضية الأتية حيث أنه إذا تم إضافة ١٠٠ كجم سليولوز في التربة تحتوى علي ٤٥٪ كربون ولا تحتوى على نيتروجين، وقامت الفطريات بتحليلها، فإنها تمثل من هذه المادة ٤٥×٣٥/١٠٠ = ١٥,٧٥ كجم كربون، وهذا يحتاج نيتروجين لبناء خلايا الميكروبات = ١٥,٧٥ × ١/١٠ = ١,٥٧٥ كجم نتروجين، أى أن تحلل ١٠٠ كجم سليولوز خالي من النيتروجين بواسطة الفطريات يؤدي إلي Immobilization بمقدار ١,٥٧٥ كجم من النيتروجين المعدني الموجود في التربة.

أما حدوث المعدنة بناء على C/N ratio فيمكن توضيحه بإضافة للتربة ١٠٠ كجم برسيم بها ٤٠٪ كربون و ٢,٥٪ نيتروجين ، فإننا نجد أن الفطر يمثل من كربون المادة المضافة ٤٠ × ٣٥/١٠٠ = ١٤ كجم كربون، وهذا يحتاج من النيتروجين إلي ١٤ × ١/١٠ = ١,٤ كجم نتروجين ، وبما أن المادة العضوية

تحتوي علي ٢,٥ كجم نيتروجين فيحدث معدنة **Mineralization** بمقدار ١,١ كجم نيتروجين.

ويجب أن نلاحظ أن النقص في النيتروجين المعدني في التربة نتيجة الـ **Immobilization** نقص مؤقت حيث أن الميكروبات لا تلبث أن تموت وتتحلل ، ولذلك فإنه عند استخدام مادة عضوية فقيرة في النيتروجين فإنه يجب إضافتها للتربة قبل الزراعة بفترة كافية حتى لا تعاني النباتات النامية نقصاً في النيتروجين الميسر.

تحلل المادة العضوية وانطلاق ثاني أكسيد الكربون

تتعدد أنواع المركبات العضوية التي يمكن للكائنات الدقيقة تحليلها مثل الأحماض العضوية، السكريات العديدة، اللجنين، الهيدروكربونات العطرية والأليفاتية، السكريات، الكحولات، الأحماض الأمينية، قواعد البيورين والبيريميدين، الليبيدات والأحماض النووية، حيث يمكن أن يهاجمها نوع أو أخر من الكائنات الحية الدقيقة.

خلال مراحل تحلل المادة العضوية يمكن تمييز ثلاث عمليات منفصلة تسير جنبا إلي جنب، الأولى هي اختفاء الأنسجة النباتية والحيوانية بتأثير الإنزيمات الميكروبية، وفي نفس الوقت يتم تخليق خلايا ميكروبية جديدة فتظهر أنواع البروتين والسكريات العديدة والأحماض النووية الخاصة بالبكتريا والفطريات، أما العملية الثالثة فهي تكوين نواتج التمثيل الغذائي التي تفرزها الميكروبات والتي يمكن أن تتراكم في التربة أو يعاد تمثيلها مرة أخرى.

ويوجد نوعين من عمليات تحليل المادة العضوية لهما أهمية عند التعرض لموضوع أكسدة المادة العضوية وتحللها في التربة وهما تحليل المادة العضوية الأصلية للتربة وتحلل المواد العضوية المضافة، فيما يتعلق بالعملية الأولى فإن تحلل المادة العضوية الأصلية (الدبال) يشير إلي أن هذه الصورة من كربون التربة في متناول الميكروبات، وبالنسبة للعملية الثانية فإن CO_2 المنطلق من خلال عمليات إضافة المواد العضوية السهلة التحلل نسبيا ما هو إلا مقياس لقدرة تحليل هذه المواد حيوياً، ويطلق لفظ معدنة **Mineralization** علي عملية تحويل الصورة

العضوية لعنصر معين إلي صورة غير عضوية، وسوف يتم عرض كل من عمليتي تحلل الدبال وتحلل المادة العضوية المضافة كل علي حدة علي الرغم من تشابه العمليتين.

تحلل المادة العضوية الأصلية (الدبال) Humus

يختلف معدل انطلاق CO_2 خلال مراحل معدنة الدبال Humus اختلافاً كبيراً تبعاً لنوع التربة حيث يتراوح في اليوم الواحد ما بين ٥ إلي ٥٠ ملليجرام CO_2 لكل كيلوجرام تربة، ولكن في بعض الأحيان يمكن أن تنطلق كميات أكبر من ذلك، أما في الحقل فإن المعدل اليومي لانطلاق CO_2 فيتراوح ما بين ٠,٥-١٠ جرام فقط للمتر المربع، ويمكن أن يزيد في بعض الأحيان إلي ٢٥ جرام، وتقدير CO_2 المنطلق تحت الظروف الحقلية يتضمن CO_2 الناتج من تنفس الجذور وحيوانات التربة بالإضافة إلي الكميات الناتجة عن النشاط الميكروبي ، كما أن النتائج المتحصل عليها تتوقف علي درجة الحرارة ومستوي الرطوبة في التربة بالإضافة إلي الفترة التي تم فيها التقدير خلال اليوم والموسم، ومن أرقام التقديرات الحقلية يتضح أن حوالي ٢- ٥٪ من كربون الدبال يمكن أن يتحول إلي الصورة المعدنية، ومن ذلك يتضح أن هناك معدنة لجزء كبير من المادة العضوية الأصلية كل عام ولكن هذه الكميات التي تفقد يتم تعويضها بوصول المواد العضوية النباتية إلي التربة، وكمية الكربون المتحول إلي الصورة المعدنية مرتبط مباشرة بكمية الكربون العضوي في التربة بمعني أن كمية CO_2 المنطلق تتناسب طردياً مع مستوي المادة العضوية في التربة.

والدبال مادة غير محددة التركيب الكيميائي ولكن الدبال يعتبر مجموعة من المواد المعقدة في التركيب إلا أنه يحتوي علي كمية قليلة من المواد القابلة للذوبان في الماء مثل السكريات البسيطة والأحماض الأمينية ولكن معظم المواد الكيميائية الموجودة في الدبال لا تذوب في الماء وهي ذات لون داكن سمراء أو بنية اللون، وعموماً فإن المواد الدبالية توجد علي ثلاث صور هي:

١- حمض الهيوميك Humic acid

وهذا الحمض يمكن استخلاصه بالمواد القلوية ويترسب من المستخلص من الأحماض.

٢- حمض الفولفيك Fulvic acid

وهذا الحمض يمكن أن يستخلص أيضا بالقلويات ولكن لا يترسب من المستخلص بالأحماض وبذلك يمكن فصله عن حمض الهيوميك.

٣- الهيومين Humin

وهو الجزء من الدبال الذي لا يمكن استخلاصه من الدبال بالمواد القلوية.

وحمض الهيوميك مقاوم للتحلل الميكروبي حيث يتحد مع اللجنين والبروتين ويتركب من نواة عطرية ناتجة من بلمرة المركبات الفينولية أما حمض الفولفيك فهو يتكون من الكربوهيدرات والبروتين بينما الهيومين فهو عبارة عن تركيب غير متجانس من البقايا النباتية التي لم تصل إلي التحلل الكامل ويحتوي بداخله علي حمض هيوميك متحد مع الطين الغروي.

أما عن أهمية الدبال في التربة فتتلخص في الأتي :

١- يمثل الدبال مخزون الأرض من المادة العضوية.
٢- المادة العضوية أو الدبال يقوم بدور هام في تحسين بناء التربة من خلال تجميع الحبيبات Aggregation .
٣- تحسن من التهوية في الأراضي الثقيلة.
٤- يزيد من احتفاظ الأرض الخفيفة بالماء.
٥- الدبال يعتبر ذو سعة تبادلية أيونية عالية مما يوفر الكثير من العناصر المغذية للنبات تصل لحوالى ٤٠ مللي مكافئ/١٠٠ جم دبال.
٦- الدبال يزيد من قدرة الأرض التنظيمية Buffering capacity.
٧- الدبال يعمل علي تدفئة التربة مما يحسن من عملية الإنبات.

تحلل المواد العضوية الكربونية المضافة إلي التربة

إذا وجد النيتروجين في المادة العضوية بكمية كبيرة وبصورة ميسرة فإن الميكروبات تستوفي حاجتها من هذا العنصر من المادة العضوية ذاتها ولا يكون هناك احتياج لكميات إضافية منه، أما إذا كانت المادة العضوية فقيرة في محتواها من هذا العنصر فيسير التحلل ببطء ويكون لإضافة عناصر نيتروجينية تأثير منشط

علي معدنة الكربون العضوي، فالتسميد في هذه الحالة بالنيتروجين سوف يؤدى إلى سرعة تناقص كميات السليولوز والسكريات العديدة.

وبغض النظر عن أن إضافة عناصر نيتروجينية إلي مخلفات المحاصيل الفقيرة في النيتروجين يؤدي إلي فقد كبير في الكربون، إلا أن هذا يناسب عملية تكوين الدبال في التربة، وتفسير ذلك مبني علي أساس أن بقايا المخلفات النباتية تتحلل جزئياً وعلي مدي فترات زمنية طويلة عند وجود نقص في نيتروجين التربة وبذلك لا تتحول إلي دبال علي الرغم من أن إضافة النيتروجين عادة ما يسرع من معدل تحلل المخلفات العضوية فإن الكمية الكلية من CO_2 المنطلق تتساوى في النهاية في وجود أو عدم وجود إضافات من النيتروجين.

ولما كانت نباتات المحاصيل تحتوى بصفة عامة علي نفس القدر من الكربون الذي يمثل حوالي ٤٠٪ من وزنها الجاف ، فإنه يمكن اتخاذ نسبة C:N كأساس للمقارنة من حيث المحتوى النيتروجيني، وبذلك يكون المحتوي المنخفض من النيتروجين أو النسبة الواسعة من C:N يصاحبها تحلل بطئ للمادة العضوية بواسطة الميكروبات في التربة.

ويؤثر نوع الطين وكميته في التربة علي معدنة الكربون حيث أن أنواع معادن الطين المختلفة تعمل علي ادمصاص كثير من المركبات العضوية وكذا الإنزيمات الخارجية المحللة للكربوهيدرات التي تفرزها الكائنات الدقيقة ، وحتى الخلايا البكتيرية نفسها تدمص علي سطح الطين ويقل معدل تحلل المادة العضوية في وجود الطين لأن أنواعه المختلفة لها قدرة ملحوظة علي احتجاز الكربون عليها.

معدنة مركبات الكربون العضوية

Mineralization of organic carbon compounds

النواتج الأساسية لمعدنة الكربون العضوي تحت الظروف الهوائية هي CO_2 والماء وخلايا الميكروبات ومكونات الدبال، أما في غياب O_2 فإن التمثيل الغذائي للكربون العضوي يصبح تمثيلا غير كامل ينتج عنه تراكم المركبات الوسطية مثل الأحماض العضوية والكحولات والألدهيدات والكيتونات وانطلاق كميات كبيرة من

CH_4 وكميات أقل من H_2، في نفس الوقت تكون الطاقة الناتجة أثناء التخمر اللاهوائى قليلة وينتج عن ذلك تكوين عدد قليل من الخلايا الميكروبية بالنسبة لوحدة الكربون التي يتم تحللها وتمثيلها، لذلك فإن تحلل المادة العضوية دائما ما يكون بطيئاً تحت الظروف اللاهوائية تماماً عنه في حالة توفر O_2، أما في ظروف تشبع التربة بالماء فإن معدل التحلل يكون بدرجة متوسطة بين هاتين الحالتين.

وبعد إضافة المادة العضوية فإن أول المركبات تحليلاً هي المركبات الذائبة في الماء مثل السكريات البسيطة حيث تستخدمها الميكروبات بسرعة، وبعد اختفاء المواد السهلة التحلل تقوم الميكروبات بتحليل المواد الكربوهيدراتية المعقدة حسب مدى تعقدها ونوع الروابط الكيماوية ووجود الميكروبات المتخصصة لذلك.

ومما هو جدير بالذكر أن تحلل المواد العضوية بواسطة ميكروبات التربة المختلفة يتم أولا بإفراز الميكروبات إنزيمات خارجية Extracellular enzymes أي في الوسط الذي تعيش فيه (التربة) حيث تقوم هذه الإنزيمات بتحليل المواد الكربوهيدراتية المعقدة إلي سكريات بسيطة ذائبة تدخل إلي داخل خلايا الميكروب عن طريق الانتشار الغشائى عبر الغشاء السيتوبلازمي ثم تقوم الميكروبات بإفراز إنزيمات داخلية Intracellular enzymes حيث تستطيع الميكروبات أن تستخدم مثل هذه السكريات كمصدر للكربون والطاقة لبناء خلاياها وجزء منها يدخل في تكوين مواد معقدة في التربة أو تدخل في تركيب الدبال.

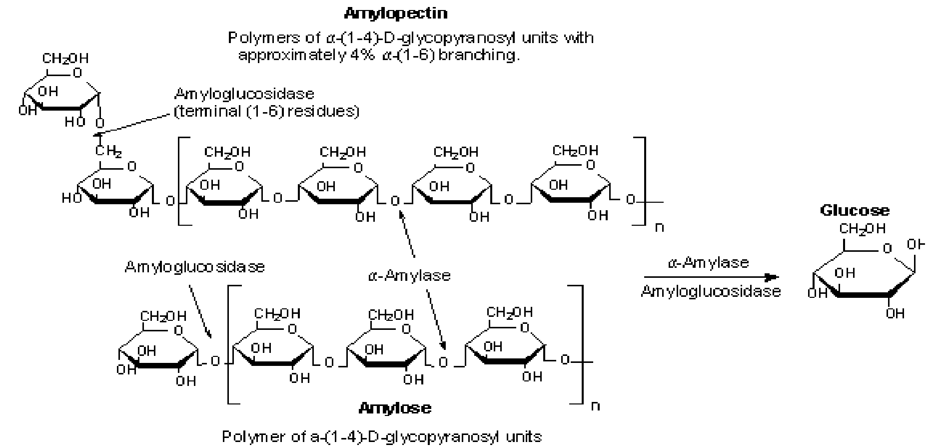
تحلل النشا Decomposition of starch

يعتبر النشا من أكبر المركبات المكونة من السكريات السداسية تواجدا بعد السليولوز في النباتات ، وهو أحد النواتج التي يقوم النبات بتخزينها ولذلك يعتبر المادة الكربوهيدراتية الأساسية المخزنة ، ويكثر وجود هذه المادة بكميات كبيرة في أوراق النباتات التي تقوم بعملية التمثيل الضوئي ، كما ينتشر وجود هذا السكر العديد في كثير من النباتات حيث يوجد في أنسجة الخشب واللحاء والقشرة والنخاع في سيقان النباتات.

ويتكون نشا النباتات من نوعين من المركبات هما الأميلوز والأميلوبكتين، فالأول يتكون أساساً من وحدات بنائية مستقيمة عبارة عن عدة مئات من وحدات

الجلوكوز التي ترتبط مع بعضها بروابط من نوع ألفا ١-٤ جلوكوسيد بين ذرة الكربون الأولي لأحد وحدات الجلوكوز وذرة الكربون الرابعة لوحدة جلوكوز أخري . وترتبط أيضاً وحدات الجلوكوز في الأميلوبكتين بواسطة روابط ألفا ١-٤ ولكن يتفرع الجزئ بحيث تتكون فيه سلاسل جانبية مرتبطة عن طريق روابط من نوع ألفا ١-٦ جلوكوسيد، وجزيء النشا كبير جداً حيث تصل عدد وحدات الجلوكوز في جزيء الأميلوز إلي ٢٠٠-٣٠٠ وحدة بينما جزيء الأميلوبكتين يتكون من وحدات جلوكوز أكثر من ٣٠٠ وحدة.

وعند تعرض النشا لنشاط الميكروبات في التربة فإنه سرعان ما يختفي حيث يتحلل بسرعة أكبر من سرعة تحليل السليولوز والهميسليولوز والأنواع الأخرى من السكريات العديدة، وفي ظروف قلة وجود O_2 تحدث عمليات تخمير هذا المركب مع إنتاج كميات كبيرة من أحماض اللاكتيك والخليك والبيوتريك، وتستمر عملية التحلل إلي درجة كبيرة حتى تحت الظروف اللاهوائية تماماً مع احتمال إنتاج الميثان، ويمكن إجمال القول بأن المواد الكربوهيدراتية تتحلل في الظروف الهوائية إلي ثاني أكسيد الكربون والماء، بينما التحلل لمثل هذه المواد يكون غير كامل فى الظروف اللاهوائية حيث ينتج الأحماض العضوية والكحولات والغازات مثل CO_2 , H_2 and CH_4.

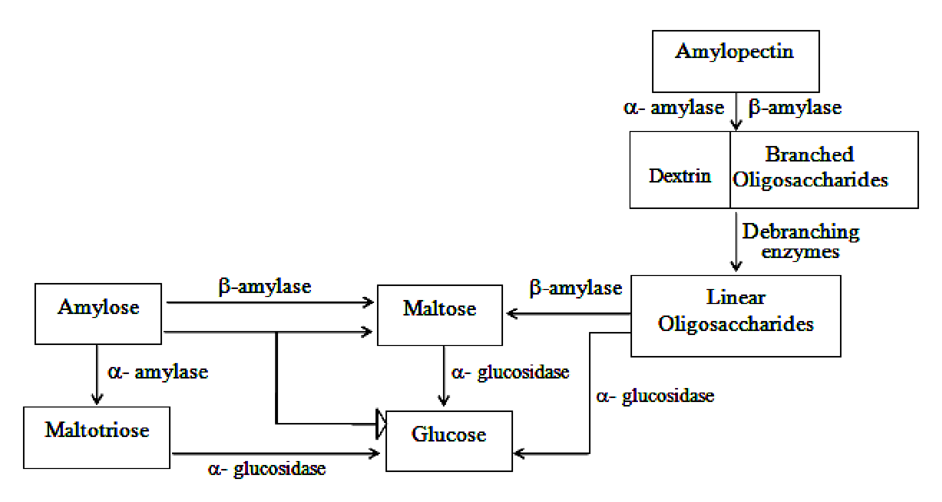


شكل ١ (٢) – ١ :التركيب البنائى لجزئ النشا

ولكل من البكتريا والفطريات القدرة علي تحليل النشا مائياً، والتباين في الخواص الفسيولوجية للميكروبات النشطة يدل علي إمكانية حدوث التحلل تحت مختلف الظروف البيئية ، ولقد وجد أن ٩٠٪ من مجموعات البكتريا مثل ***Bacillus, Clostridium, Micrococcus*** **and** ***Chromobacterium*** يمكنها أن تستخدم هذا السكر العديد كمصدر للكربون ، وعادة ما تحتوى التربة علي أعداد من الميكروبات المحللة للنشا تتراوح بين ١٠^{٥} – ١٠^{٧} أو أكثر في الجرام، وأحياناً يكثر تواجد هذه الميكروبات بصفة خاصة في المنطقة القريبة من جذور النبات، كما أن السلالات المختلفة من ***Streptomyces*** يمكنها هي الأخرى استخدام هذه المادة الكربوهيدراتية، ويمكن لكثير من الفطريات مثل ***Aspergillus, Fusarium*** **and** ***Rhizopus*** أن تفرز الإنزيمات المناسبة لتحليل النشا مائياً والأحياء الدقيقة القادرة علي تحليل النشا تسمي **Amylolytic microorganisms.**

وإنزيمات الأميليز تحلل النشا تحليلا مائياً وهى عبارة عن إنزيمات خارجية وتوجد ثلاثة أنواع من إنزيمات الأميليز المتخصصة في تحليل النشا هي ألفا – أميليز وبيتا – أميليز وألفا جلوكوسيديز، إنزيم **α–amylase** قادر على تكسير الروابط في السلاسل المستقيمة لكل من الأميلوز والأميلوبكتين عشوائياً ولكنه غير قادر على تكسير الروابط المتفرعة وبذلك فان ناتج تحلل النشا بواسطة هذا الإنزيم عبارة عن سلاسل من وحدات جلوكوز مختلفة في العدد تعرف بالدكسترينات وقليل من السكر الثلاثي المعروف بالمالتوتريوز، أما البيتا–أميليز **β–amylase** يعمل علي كل من الأميلوز والأميلوبكتين، فيقوم بتكسير الرابطة من أطراف الجزئ بحيث تعمل علي تكسير رابطة مع ترك الرابطة التالية لها وهكذا حتى يتكون في النهاية وحدات من السكر الثنائي المالتوز، ولكن هذا الإنزيم غير قادر علي تحليل نقاط التفرع في الأميلوبكتين تحليلا مائياً فيبقي بعد انتهاء التحلل أجزاء من الدكسترينات بالإضافة إلي السكر الثنائي، ولما كان هذا الإنزيم غير قادر علي تكسير نقاط التفرع عند الرابطة **α–1,6 glucosidic linkage** فإن هذا سوف يؤدي إلي تراكم الدكسترينات المحتوية علي التفرعات التي تتحلل بواسطة إنزيمات أخرى ، ثم يقوم

إنزيم ألفاجلوكوسيديز α-1,4 glucosidase (gamma amylase) بفصل وحدات الجلوكوز من أطراف الجزئ ومن المالتوز، وبذلك يكون الجلوكوز هو الناتج النهائي لتحلل النشا حيث يمر إلي داخل الخلية ثم يتحلل هوائياً أو لا هوائياً حسب الميكروب المحلل وظروف التحلل.



شكل ١ (٢) –٢: خطوات تحلل جزئ النشا

تحليل السليولوز Cellulose decomposition

السليولوز هو أهم مكونات النباتات الراقية ومن المحتمل أن يكون أكثر المركبات العضوية وفرة في الطبيعة، لما كانت الغالبية العظمي من المواد النباتية التي تضاف إلي التربة عبارة عن مركبات سليولوزية، تحلل هذا النوع من المواد الكربوهيدراتية يصبح له أهمية خاصة في دورة الكربون الحيوية ولهذا أعطيت الاهتمامات الكافية لدراسة الكائنات الدقيقة التي تشترك في تحليل هذه المادة.

شكل١ (٢) –٣: التركيب البنائي للسليولوز

من ناحية التركيب البنائي فإن السليولوز عبارة عن مادة كربوهيدراتية تتكون من وحدات من الجلوكوز المرتبطة ببعضها طولياً بروابط من نوع بيتا $\beta-1,4$ بين ذرة الكربون الأولى وذرة الكربون الرابعة لوحدة جلوكوز أخري من جزئ السكر لتكون سلاسل طويلة. تشير معظم الدلائل إلي أن جزئ السليولوز يتكون من 2,000 إلي 10,000 وحدة جلوكوز وقد تصل أحياناً إلي 15,000 وحدة جلوكوز، ويختلف عدد وحدات الجلوكوز في السلسلة وكذلك الوزن الجزئي للسليولوز باختلاف نوع النبات، كما تشير التقديرات إلي أن الأوزان الجزيئية له تتراوح بين 200,000 إلي حوالي 2,4 مليون دالتون.

ويتكون النظام الإنزيمي المحلل للسليولوز من ثلاث إنزيمات هى C_1, C_x وglucosidase حيث يتطلب التحليل وجود الثلاث إنزيمات ، حيث يحلل إنزيم C_1 (Endo-β-1,4 glucanase) المركب الأساسي ويحدث له تحلل جزئي، أما إنزيم (Exo-β -1,4 glucanase) C_x يعمل على نواتج تحليل الإنزيم الأول وينتج سكر ثنائي وهو السلوبيوز علاوة على سلاسل قصيرة من وحدات من الجلوكوز،أما الإنزيم الثالث وهو β-1,4 glucosidase (Cellobiase) فيحلل السكر الثنائي السلوبيوز والسلاسل القصيرة إلى وحدات من الجلوكوز، وتوجد مجموعة إنزيمات السليولوز في جسيمات قرب سطح الخلية الميكروبية المحللة للسليولوز تسمى Cellulosome تقوم بربط جزئ السليولوز بسطح الخلية ثم تفرز

الإنزيمات الخارجية. أما إنزيم β-1,4 glucosidase فهو إنزيم داخلي ويطلق عليه Cellobiase.

خطوات تحلل السليولوز

Cellulose $\xrightarrow{C1}$ Chains of cello-Oligo-saccharides

Cello-oligo-saccharides $\xrightarrow{Cx}$ Oligo-saccharides + Cellobiose

Cellobiose $\xrightarrow{Cellobiase}$ Glucose

العوامل التي تؤثر علي تحليل السليولوز

يوجد عدد من العوامل البيئية التي تتحكم في معدل تمثيل السليولوز، والعوامل البيئية الرئيسية التي تؤثر علي عملية التحليل هي مستوي النيتروجين الميسر، الحرارة، التهوية، الرطوبة، رقم الأس الأيدروجيني، وجود أنواع أخرى من الكربوهيدرات، وأخيراً وجود نسبة من اللجنين في المخلفات النباتية لمكونات النبات.

ولقد وجد أن إضافة النيتروجين المعدني يسرع من انحلال السليولوز، فأملاح النشادر والنترات تعتبر من المصادر النيتروجينية المناسبة لهذا الغرض، ويسير معدل التحلل بصورة مطردة مع الزيادة في كمية النيتروجين المضافة ولكن عند زيادة معدل الإضافة فإن ذلك لا يصاحبه زيادة في معدل تحلل السليولوز حيث تكون هناك زيادة في النيتروجين المعدني تفوق احتياجات الميكروبات من هذا العنصر.

تتأثر كل مجموعة من الميكروبات المحللة للسليولوز بالحرارة بطريقة مخالفة للأخرى، فتصبح السيادة للأنواع الوسطية الحرارة عند درجات الحرارة المتوسطة ، بينما تقوم الأنواع المحبة للحرارة العالية ، والتي تأقلمت علي المعيشة في الأماكن الحارة، بالتحليل السريع للسليولوز عند درجات حرارة أعلي من ٤٥°م، ويوجد تأثير واضح للمواسم علي معدل التحليل ربما يكون راجعاً بدرجة كبيرة إلي التغيرات في الحرارة والرطوبة من وقت لأخر.

تؤثر التهوية أيضا في التركيب الميكروبي للأنواع النشطة فتكون السيادة في الأوساط البيئية الجيدة التهوية للأنواع الهوائية، بينما تكون ظروف انخفاض الضغط الجزيئي لغاز الأكسجين هي المناسبة للبكتريا اللاهوائية، وبسبب طبيعة العمليات الحيوية اللاهوائية يكون معدل تمثيل السليولوز في الأوساط البيئية ذات المحتوي القليل من O_2 والرطوبة العالية أقل بدرجة كبيرة إذا ما قورنت بمثيله في الأماكن الجيدة التهوية، حيث تقل أعداد الفطريات والأكتينوبكتريا المستخدمة للسليولوز، أما مستوي الرطوبة المتوسطة والجيدة التهوية فإنه يناسب نمو الفطريات والبكتريا الهوائية المحللة للسليولوز.

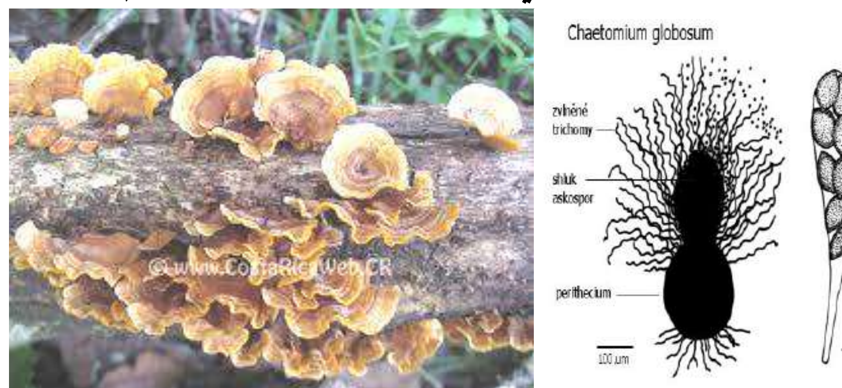
وفي الأوساط البيئية ذات الأس الأيدروجيني المتعادل أو القلوي هناك كثير من الكائنات الحية الدقيقة خاصة البكتريا قادرة علي النمو وإنتاج الإنزيمات المناسبة لتحليل السكريات العديدة تحليلا مائياً، أما في الظروف الحمضية فيرجع تحلل السليولوز بدرجة أساسية إلي فعل الفطريات الخيطية، علي الرغم من أن تحلل السليولوز يتم بسرعة عندما يكون رقم الأس الأيدروجيني للتربة هو ٥,٠ أو حتى أقل من ٤,٠ في بعض الأحيان.

الميكروبات الهوائية المحللة للسليولوز

توجد مجموعة متعددة الأشكال من الفطريات التي يمكنها استخدام السليولوز كمصدر للكربون والطاقة، تحدث زيادة كبيرة في أعداد الفطريات عقب إضافة السليولوز إلي التربة وخصوصا عندما يتوفر قدر كاف من النيتروجين، وأنواع الفطريات ذات القدرة العالية علي تحليل السليولوز تتبع أجناس *Aspergillus, Chaetomium, Fusarium* and *Trichoderma*، ومن المحتمل أن تكون الفطريات هي العامل الأساسي لتحلل السليولوز في الأراضي الرطبة بينما تكون البكتريا أكثر أهمية في هذا المجال في المناطق شبه الجافة.

ويعتبر فطر *Polyporus versicolor* ذو قدرة علي تحليل السليولوز المرتبط باللجنين (اللجنوسليولوز) وهذا الفطر له القدرة علي إفراز إنزيم خارجي يقوم بفصل اللجنين عن السليولوز.

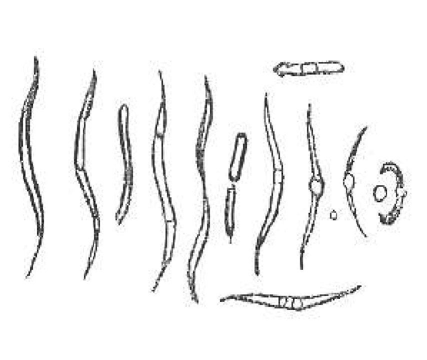
كما تختلف أعداد البكتريا الهوائية المحبة للحرارة المتوسطة التي تحلل السليولوز من تربة إلي أخري، فقد توجد أحياناً بأعداد تقل عن ١٠٠ وفي أحيان أخرى بأعداد تزيد عن ١٠ مليون في الجرام، وتزداد وفرة الأعداد في الحقول المسمدة بالأسمدة العضوية وأحيانا في الأجزاء المجاورة لجذور النبات (الريزوسفير)

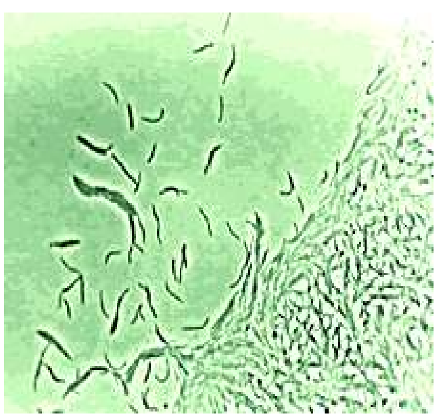


Polyporus versicolor *Chaetomium globosum*

شكل ١ (٢) – ٤ :الفطريات المحللة للجنوسليولوز

وأهم أنواع البكتريا المحللة للسليولوز هي التي تنتمي إلي جنس *Cytophaga* وهي ذات خلايا عصوية طويلة مرنة لها أطراف مدببة ولها دور هام في التحلل الهوائي لهذا السكر العديد ومن أهم الأجناس التي تنتمي إلي هذا الجنس هي *Cytophaga lytica* and *Cytophaga rubra* كذلك الأنواع من جنس *Pseudomonas* and *Bacillus* فهي أيضاً تستخدم السليولوز كمصدر للكربون والطاقة.





شكل١ (٢) –٥ :الشكل المورفولوجي لبكتريا *Cytophaga*

أما الأكتينوبكتريا المحللة للسليولوز فقد نالت اهتماما قليلا علي الرغم من تواجدها أثناء تحلل المواد السليولوزية، وكثير من أنواع جنس ***Streptomyces*** تنمو علي بيئات أجار السليولوز المحتوية علي عناصر غذائية معدنية مع تكوين صبغات واضحة ، وغالباً ما تظهر منطقة رائقة حول المجموعة الميكروبية وهذه الهالة من مميزات الإنزيمات الخارجية، بالإضافة إلي جنس ***Streptomyces*** فهناك أنواع من أجناس ***Micromonospora, Streptosporangium*** **and** ***Nocardia*** محللة أيضا للسليولوز، أما عن أهم الفطريات التي تقوم بتحليل السليولوز بعض الأنواع التي تنتمي إلي أجناس ***Chaetomium, Trichoderma, Aspergillus*** **and** ***Fusarium.***

ويجب أن نشير إلي أن تحلل السليولوز بواسطة الميكروبات الهوائية فإنه يتحول كلياً إلي CO_2 , H_2O ولا يحدث أي تراكم لنواتج التحلل الوسطية لأن سرعة تحلل السليولوز إلي سكريات بسيطة أبطأ من سرعة استهلاك السكريات البسيطة بواسطة الميكروبات.

الميكروبات اللاهوائية المحلة للسليولوز

يوجد الكثير من الكائنات الدقيقة التي تقوم بتحليل السليولوز تحت الظروف اللاهوائية، والتي لا تستطيع الأكسدة الكاملة ، ونتيجة تكسير جزئ السليولوز لاهوائياً تنتج كميات كبيرة من الكحولات والغازات (H_2 , CH_4) والأحماض العضوية مثل الخليك والفورميك واللاكتيك والبيوتيريك، وعندما تصبح ظروف التربة لا هوائية فإن عملية التحلل تتم بواسطة البكتريا اللاهوائية والاختيارية والتي لا تحتاج لوجود O_2 بينما لا تكون هناك أهمية تذكر للفطريات والأكتينوبكتريا.

وتتراوح أعداد البكتريا اللاهوائية التي تحلل السليولوز في الأراضي غير المغمورة بالماء بين ١٠^{٢}–١٠^{٣} في الجرام، ولكن تزيد أعدادها في وجود المواد المتخمرة أو عند غياب الهواء، وأكثر الميكروبات المحللة للسليولوز لاهوائياً في الطبيعة هي أنواع من جنس ***Clostridium*** مثل ***C. dissolvens*** وهو محب للحرارة المتوسطة، ومن أنواع البكتريا اللاهوائية المتجرثمة المحبة للحرارة العالية ميكروب ***Clostridium thermocellum*** وتتراوح درجة الحرارة المثلي للأنواع

المحبة للحرارة العالية والمحللة السليولوز بين ٥٥-٦٥ْم ويقل نشاطها عند أقل من ٥٠ْم، ولا تنمو في درجات حرارة أعلي من ٦٨ ْم ودرجة الحموضة المثلي لها عند حدود التعادل.

تحلل الهميسليولوزات Hemicelluloses decomposition

الهميسليولوزات هي أحد المكونات النباتية الرئيسية التي تضاف إلي التربة ، وهي تلي السليولوز من حيث كمياتها المضافة وبذلك فإنها تمثل مصدرا هاماً من مصادر الطاقة والغذاء للكائنات الدقيقة، ولا يجب أن يعطى تسميتها انطباعا بأنها تشبه السليولوز ولكن هذه التسمية ترجع إلى لوجود الهيمسليولوز مجاورا للسليولوز في جدر النباتات الراقية ولا علاقة لتركيبه بتركيب السليولوز.

أما عن تركيبه فهو عبارة عن سلاسل من مواد كربوهيدراتية معقدة غير متجانسة غير قابلة للذوبان في الماء يدخل في تركيبها سكريات سداسية مثل الجلوكوز والجالاكتوز والمانوز وخماسية مثل الزيلوز والأرابينوز وأحماض يورونية وقد اقترح تسميتها بأكثر السكريات الغالبة فيها مثل الزيلان **Xylanse** أو الجالاكتان **Galactans** أو المانان **Manans**، لم يتم دراسة تركيب الهيمسليولوزات بالتفصيل إلا لأنواع قليلة منها فقط ، وقد أعطي المزيد من الاهتمام بوجه خاص لمركبات الزيلان لأنها تمثل ٧ -٣٠٪ من وزن النبات، والتي تتركب من سلاسل من وحدات سكر الزيلوز مع وجود سلاسل جانبية محتوية علي الأرابينوز وحمض الجلوكورونيك وعدد من السكريات الأخرى التي غالبا ما تكون موجودة بنسبة ضئيلة، وتشكل وحدات الزيلوز الهيكل الأساسي للسلسلة المستقيمة في مركبات الزيلان، حيث ترتبط جزيئات السكر مع بعضها البعض بروابط من النوع β-1,4، وتحتوى بعض النباتات علي مركبات الجالاكتان الذي يتكون من وحدات من سكر الجلاكتوز بصفة أساسية في التركيب ، كما تحتوى بعض الأنواع علي مركبات المانان التي يدخل في تركيبها سكر المانوز فقط ، علي العكس من ذلك فإن معظم الهيمسليولوز في بعض الأنسجة الخشبية يكون عبارة عن جلوكومانان يتكون من سكر المانوز والجلوكوز بنسبة ١:٢، وكمثال لبعض أنواع الهيميسليولوزات

المحتوية علي خليط من السكريات فتوجد مركبات الجلاكتومانان والأرابينوزيلان والأرابينوجلاكتان في بعض الأنسجة النباتية.

الكائنات الحية الدقيقة المحللة للهميسليولوز

يوجد الكثير من الكائنات الدقيقة الهوائية واللاهوائية يمكنها استخدام الهميسليولوزات للنمو ولتخليق الخلايا، وأنواع الميكروبات النشطة في تحليل الهميسليولوز توجد بكثرة عن الأنواع المحللة للسليولوز، والكائنات الدقيقة المسئولة عن تحليل الهميسليولوزات تشتمل علي مجموعة كبيرة من الميكروبات سواء من حيث التقسيم أو الأشكال المورفولوجية أو المجموعات الفسيولوجية ولا تتميز هذه الكائنات بظاهرة التخصص الدقيق في نوعية المواد التي تحللها بعكس الحال بالنسبة للكثير من محللات السليولوز، فبالإضافة إلي السكريات العديدة، فإن هذه الميكروبات يمكنها استخدام الأحماض العضوية وكثير من السكريات البسيطة. ونظراً للتباين الكبير في التركيب الكيميائي للهميسليولوزات في مختلف أنواع النباتات ، فإنه يصبح من المتوقع أن تختلف تبعاً لذلك أنواع الميكروبات القائمة علي تحليل هذه المركبات واستخدامها، كما يمكن أيضاً أن يتغير التركيب الميكروبي تبعاً لطبيعة المكونات المرتبطة مع بعضها داخل الأنسجة النباتية.

ويمكن لكثير من الفطريات والبكتريا والأكتينوبكتريا أن تعمل علي تحليل الهميسليولوزات عند وجودها في مزارع نقية بحيث تستخدمها كمصادر وحيدة للكربون والطاقة مثل ***Alternaria, Fusarium, Aspergillus*** **and** ***Penicillium*** ، كما أوضحت الدراسات المتعددة أن هناك أنواعاً من البكتريا التي تتبع أجناس ***Bacillus, Cytophaga, Erwinia, Pseudomonas, Sporocytophaga*** **and** ***Xanthomonas*** بالإضافة إلي مختلف الأنواع الأخرى يمكنها دون شك استخدام الهميسليولوزات كمصادر للكربون، وتوجد أنواع من جنس ***Streptomyces*** وأجناس أخرى من الأكتينوبكتريا لها نفس القدرات الفسيولوجية علي تحليل الهميسليولوزات.

التحلل الحيوي للهميسليولوز

توجد عدة إنزيمات مختلفة متخصصة في تحليل الهميسليولوز، فالسكريات العديدة المتباينة الموجودة ضمن هذه المجموعة من المكونات النباتية تحتاج إلي وجود مجموعات خاصة من الإنزيمات حتى يمكن استخدامها حيوياً، يوجد ثلاثة أنواع من الإنزيمات التي يمكن لها أن تقوم بالتحلل وهي:

(أ) إنزيمات داخلية (أى تعمل على الجزئ من الداخل) وهي التي تعمل علي تكسير الروابط عشوائياً بين الوحدات البنائية للهميسليولوز.

(ب) إنزيمات خارجية وهي تعمل علي تكسير إما وحدات من السكر الثنائي أو وحدات من السكر الأحادي من نهاية السلسلة للسكر العديد.

(جـ) إنزيمات تعرف في مجموعها بإنزيمات الجلوكوسيديز وإنزيم الجلوكوسيديز يحلل الأوليجومرات أو السكريات الثنائية الناتجة عن التكسير الإنزيمي للهميسليولوز تحليلا مائيا وبذلك تنتج السكريات البسيطة أو حمض اليورونيك وهذه يتم تمثيلها بواسطة الخلية لإنتاج الطاقة.

تم التعرف علي الكثير من إنزيمات الزيلانيز لأنواع الميكروبات غير ذاتية التغذية. وتتوقف نواتج التحلل علي نوع الإنزيم، ولكن هذه الإنزيمات الداخلية تتميز بتكوينها الزيلوبيوز (سكر ثنائي) وسكريات عديدة عالية كما أن الإنزيمات الخارجية عادة ما تكون الزيلوز الذي يمثله الميكروب بعد ذلك داخل الخلية. وبخلاف الزيلوز فإن الكميات الصغيرة من السكريات الأخرى في مركبات الزيلان تنطلق أيضاً ويتم تمثيلها.

ويوجد إنزيمات المانانيز التي تفرز خارج الخلايا بواسطة الفطريات والبكتريا، وهذا النوع من الإنزيمات يمكن أن يكون من الإنزيمات الدائمة الوجود في الخلية لبعض الميكروبات كما يمكن أن تكون من الإنزيمات المستحثة في ميكروبات أخرى، من ناحية أخرى فإن هذا الإنزيم ليس متخصصاً في تحليل السكريات العديدة المحتوية علي وحدات سكر المانوز فقط بل إنه يقوم أيضا بتحليل الجلاكتومانان والجلوكومانان ، وكل منهما يدخل المانوز بصفة رئيسية في وحداته البنائية. وعند غياب الجلوكوسيديز فإنه غالباً ما تتراكم السكريات الثنائية والأوليجومرات لأن

التحليل الكامل يحتاج إلي وجود إنزيمات تكسر كل من المركبات المبلمرة والسكريات العديدة.

ويمكن أن تحتوي مركبات الجلاكتان علي روابط $\beta-1,2$ وكذلك $\beta-1,4$ بين وحدات الجلاكتوز وأن تكسير هذه الروابط يحتاج وجود إنزيمين مختلفين يطلق علي أى منهما اسم جلاكتانيز، وينتج عن عمل هذه الإنزيمات تكوين إما جلاكتوز أو جلاكتوبيوز أو جلاكتوتريوز، كما يمكن أن تتكون جميعها معاً في وقت واحد وهذا يتوقف علي الطريقة التي يتم بها تكسير المركب، وبصفة عامة فإنه يمكن القول بأن تحلل الهميسليولوز بواسطة ميكروبات التربة يتطلب وجود مجموعة كبيرة من الإنزيمات لأنه معقد التركيب حيث يبدأ التحلل بتكسير مركب الهيمسليولوز إلي وحدات أصغر ثم تتحلل هذه الوحدات إلي سكريات ثنائية وأحماض يورونية وأخيراً تتحول السكريات الثنائية بفعل إنزيمات الجلوكوسيديز إلي سكريات أحادية تستطيع أن تمر إلي داخل الخلية الميكروبية، ويمكن وضع تصور لتحلل الهيمسليولوز بواسطة الكائنات الحية الدقيقة علي النحو التالي:

Hemicellulose $\xrightarrow{\text{Exoenzymes}}$ " Hexoses" such as Glucose, Mannose, Glactose and Fructose + Uronic acids .

Hemicellulose $\xrightarrow{\text{Exoenzymes}}$ " Pentoses" such as Xylose and Arabinose + Uronic acids .

تحلل المواد البكتينية

Decomposition of pectin substances

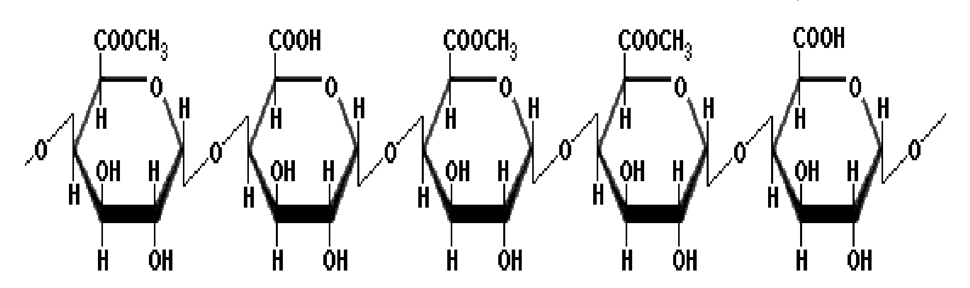
المواد البكتينية في العادة لا تعتبر جزءاً كبيراً من المحتوي الجاف للنباتات، فهي عادة تقل في نسبتها عن ١٪، وترجع أهمية وجود هذه السكريات العديدة إلي علاقة وجودها بالتركيب الفيزيائي لأنسجة النبات، وأيضاً إلي علاقتها بحدوث أنواع من الأمراض الناتجة عن الإصابة بالميكروبات الكامنة في التربة أو الميكروبات الممرضة، وتوجد المواد البكتينية بوفرة في الصفائح الوسطي فهي المركبات التي

توجد بين الخلايا في الأنسجة النباتية، ووجود البكتين بين خلايا النسيج يعمل علي ربطها مع بعضها، وتحتوي الجدر الأولية والثانوية للخلية علي سكريات عديدة من هذا النوع أيضاً، والمواد الكربوهيدراتية البكتينية عبارة عن سكريات عديدة معقدة التركيب تتكون من وحدات من حمض الجلاكتورونيك ترتبط مع بعضها البعض لتكون سلسلة طويلة ، فهي بذلك عبارة عن أحماض جلاكتورونية عديدة علي الرغم من وجود كميات صغيرة من السكريات أحياناً في هذا المركب، ويمكن أن يحدث لمجموعة كربوكسيل الوحدات البنائية من حمض الجلاكتويورونيك أسترة جزئية أو كلية بواسطة مجموعات الميثيل، كما يمكن أن تتعادل بدرجة جزئية أو كلية بمختلف أنواع الكاتيونات وتوجد ثلاث أنواع من المواد البكتينية:

(أ) البروتوبكتين وهو أحد مكونات جدار الخلية وهو غير ذائب في الماء مكون من وحدات من حمض الجلاكتويورونيك ويحتوي علي كثير من روابط استرات الميثيل.

(ب) البكتين وهو بوليمر لحمض الجلاكتويورونيك ذائب في الماء يشبه السابق في تركيبه ونسبة مجاميع الإستر به حوالي ٨٪.

(ج) حمض البكتيك وهي بوليمر من حمض الجلاكتويورونيك وهو ذائب في الماء ولا يوجد به روابط إسترات الميثيل.



شكل ١ (٢) – ٦: وحدات سلسلة حمض الجلاكتورنيك حيث يحتوي بعضها علي روابط ميثيل استر

لكلٍ من البكتريا والفطريات والأكتينوبكتريا القدرة علي تحليل المواد البكتينية تحليلا مائياً حيث تستخدم هذه السكريات العديدة كمصادر للطاقة اللازمة للنمو. وكقاعدة عامة فإن المواد البكتينية تتحلل بسهولة بواسطة الميكروبات سواء في

التربة أو في المزارع الميكروبية، فالتباين في أنواع الميكروبات وقابلية الأجناس النشطة منها علي تواجدها بكثرة في أنواع الأراضي والمواد الغذائية المختلفة يمكن اعتبارها دليلاً علي كثرة الأنواع الميكروبية المحللة للبكتين، ويكثر وجود الكائنات الحية الدقيقة التي تستخدم المواد البكتينية ليس في التربة فحسب ولكن أيضا في منطقة الجذور حيث وجد أن أعدادها تتجاوز ١٠^{٧} في الجرام من التربة الملاصقة مباشرة لجذور النباتات، والأجناس البكتيرية النشطة في تحليل البكتين والتي توجد أنواعها بأعداد وفيرة هي علي وجه التحديد ***Arthrobacter, Bacillus, Clostridium Flavobacterium, Micrococcus*** **and** ***Peusdomonas*** ، كما أنه يوجد أجناساً أخرى تتضمن أنواعاً يمكنها أيضاً استخدام هذا النوع من الكربوهيدرات والقدرة علي استخدام هذا السكر العديد شائع بين الأكتينوميسيتات من أجناس ***Streptomyces, Actinoplanes*** **and** ***Micromonospora***.

ويمكن تقسيم أنواع الإنزيمات القادرة علي تحليل المواد البكتينية إلي قسمين رئيسيين:

- إنزيم البكتين ميثيل إستيريز **(Pectin methyl estrase (PME**

إنزيم البكتين ميثيل إستيريز يعمل فقط علي إحداث تغيرات بسيطة في الجزئ حيث يقتصر علي إزالة مجموعات الميثايل وانفراد الميثانول وبهذا فهو يحول البكتين أو الأحماض البكتينية إلي حمض بكتيك.

$$(RCOOCH_3)_n + {}_nH_2O \longrightarrow (RCOOH)_n + {}_nCH_3OH$$

وهذا التفاعل لا يؤدي إلي تحليل المواد البكتينية بل يعمل فقط علي تغييرها إلي الصورة المناسبة لعمل الإنزيم القائم علي الخطوة التالية من التحليل.

وتنقسم الإنزيمات التي تقوم بتكسير روابط البوليمر بالتحليل المائي إلي قسمين:

(أ) إنزيم البولي ميثايل جلاكتويورونيز **(Polymethyl glacturonase (PMG** الذي يحلل جزئ البكتين بمعدل أسرع من تحليلها لحمض البكتيك.

(ب) إذا كان التحليل المائي لحمض البكتيك يتم بمعدل أسرع من تحلل البكتين فيعرف الإنزيم باسم بولى جلاكتويورونيز **(Polygalacturonase (PG** حيث يتكون في النهاية حمض الجلاكتويورونيك.

والإنزيمات المسئولة عن تكسير الروابط بطريقة الإزالة الانتقالية تعمل أيضا علي فك البلمرة، إلا أنها تؤدي إلي إنتاج صورة متحورة من حمض الجلاكتويورونيك وهذه الإنزيمات عبارة عن نوعين:

(أ) إذا كان البكتين أسهل في التحلل من حمض البكتيك فيسمي الإنزيم باسم بكتين لاييز Pectin lyase.

(ب) إذا كان حمض البكتيك يتحلل بمعدلات أسرع من معدلات تحلل البكتين فيطلق عليه اسم بكتات لاييز Pectate lyase والمعادلات التالية توضح خطوات تحلل المواد البكتينية.

$$\text{Protopectin} \xrightarrow{\text{PME}} \text{Pectin} \xrightarrow{\text{PMG}} \text{Pectic acid}$$

$$\text{Pectic acid} \xrightarrow{\text{PG}} \text{Galacturonic acid}$$

$$\text{Pectic acid} \xrightarrow{\text{Lyase}} \text{Galacturonic acid}$$

ويعتبر تحلل المواد البكتينية ذو أهمية تطبيقية كبيرة في مجال تعطين نباتات الألياف Retting مثل التيل والكتان والجوت والسيسال حيث تعمل الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية المكونة للصفيحة الوسطى التي تربط أنسجة الألياف ثم تتفكك وبذلك يسهل فصل الألياف السليولوزية (الألياف اللحائية)عن باقي الأنسجة النباتية. كذلك فإن القدرة على إحداث أمراض العفن الطري Soft rot مرتبط بقدرة هذه الميكروبات على إفراز الإنزيمات المحللة للموارد البكتينية ومن أهم المحاصيل التي تصاب بالعفن الطري هي البطاطس والجزر والخيار واللفت وغيرها من محاصيل الخضر والفاكهة.

ويعتبر ميكروب *Erwinia Caratovora* هو المسبب الأساسي لمرض العفن الطري حيث يؤدى نمو هذا الميكروب داخل الأنسجة النباتية إلى تفكك الخلايا بسبب قدرة هذا الميكروب على إفراز الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية، أيضا وجد أن قدرة الفطريات المسببة للذبول Wilting يرجع إلى إفراز مثل هذه الفطريات الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية.

تحليل الكيتين Chitin decomposition

يعتبر الكيتين أكثر أنواع السكريات العديدة ذات الوحدات الأساسية من السكريات الأمينية تواجدا في الطبيعة، وطبيعة تركيب هذا السكر العديد يعطي الكائنات المحتوية عليه قوة ميكانيكية كبيرة، فالكيتين غير ذائب في الماء أو المذيبات العضوية أو القلويات المركزة أو الأحماض المعدنية المخففة ولكن يمكن إذابته وتحليله إما عن طريق الإنزيمات أو بمعاملته بالأحماض المعدنية المركزة، ومن ناحية التركيب البنائي فإن الكيتين يتكون من سلسلة طويلة مستقيمة من وحدات N–acetylglucoseamine .

وتركيب الكيتين هو $(C_6H_9O_4.\ NH-COCH_3)_n$ ويحتوى المركب النقي علي ٦,٩٪ نيتروجين، وهذا البوليمر يتشابه مع السليولوز مع استبدال وحدة الأسيتيل أمينو $-NH-COCH_3$ بمجموعة الهيدروكسيل في وحدة الجلوكوز وتحتوى بعض الكيتينات علي كميات مختلفة من الكيتوزان المرتبط معها، والكيتوزان يشابه الكيتين إلا أنه لا يحتوى علي مجموعات الأسيتيل $-COCH_3$ وهو يكون بذلك عبارة عن سلسلة طويلة من وحدات الجلوكوز أمين $C_6H_9O_4.\ NH_2$ تربط مع بعضها البعض تماما بنفس طريقة الارتباط في الكيتين.

يتواجد الكيتين في التربة من بقايا الحشرات التي تقضى أطوارا من حياتها تحت سطح التربة كما أنه ينتج أيضاً أثناء نمو الفطريات وربما بعض الميكروبات الأخرى، وحتى في حالة عدم إضافة الكيتين فإن هذا السكر العديد الأميني يتكون في التربة بعمليات التخليق الحيوي لميكروبات التربة، لذلك فهو يعتبر أحد المركبات الأولية للجزء العضوي من مكونات التربة الذي تقوم خلايا الميكروبات بتخليقه بصفة مستمرة.

تتسبب إضافة الكيتين إلي التربة في تنشيط الميكروبات بها وهذا المركب الثابت في تركيبه الكيميائي تتم معدنته خلال فترة زمنية قصيرة نسبيا، حيث أن الكيتين النقي له نسبة ضيقة من C:N بحيث أن أي إضافات نيتروجينية تكون زائدة عن حاجة الميكروبات، ولذلك فإنه عند زيادة نشاط الميكروبات المحللة لهذه المادة فسوف يؤدي ذلك إلي تراكم النيتروجين المعدني، ففي خلال فترة زمنية تقل

عن شهرين يكون ٣٠-٦٠٪ من نيتروجين مادة الكيتين قد تحول إلي الصورة المعدنية تحت الظروف الهوائية ولكن تحلل الكيتين يعتبر أبطأ من تحلل البروتينات والأحماض النووية.

شكل ١(٢) -٧ :التركيب البنائي للكيتين

تحتوى الأراضي القابلة للزراعة علي أعداد كبيرة من الميكروبات المحللة للكيتين حيث يمكن أن تصل أعداد هذه الكائنات الدقيقة التي تستخدم هذا السكر العديد إلي $١٠^{٦}$ في جرام التربة، علي الرغم من وجود الأكتينوبكتريا بأعداد قليلة نسبيا في مجموع الكائنات الدقيقة للتربة فإن حوالي ٩٠ - ٩٩٪ من عزلات الميكروبات المحللة للكيتين في بعض الأراضي تكون عبارة عن أكتينوبكتريا في حين تمثل البكتريا مجرد نسبة ضئيلة منها ، أما الفطريات المحللة للكيتين فهي تمثل من ١٪ من المجموع الكلي للكائنات الدقيقة المحللة لهذه المادة لذلك ففي التربة الغير معاملة بالكيتين فإنه أحيانا ما تكون غالبية الكائنات المحللة للكيتين هوائيا هي الأكتينوبكتريا. وقد تصل أعداد محللات الكيتين في التربة إلي ٧٠٠ مليون ميكروب من ***Streptomyces*** في الجرام كما أنها تحتوي أيضا علي أعداد من جنس ***Nocardia*** ولكن بدرجة أقل وهذه الميكروبات تشكل الجزء الأعظم من مجموع الميكروبات المحللة للكيتين، نظرا لأن الكثير من الأنواع التابعة لأجناس ***Streptomyces, Nocardia, Micromonospora, Actinoplanes*** **and** ***Streptosporangium*** يمكنها استخدام الكيتين فقد أدي ذلك إلي تصميم بيئات غذائية منتخبة تحتوى علي هذا البوليمر لاستخدامها في عزل الأكتينوبكتريا.

من ناحية أخرى فإنه يمكن أن يكون للفطريات والبكتريا دور بارز في هذا المجال في بعض أنواع التربة فالفطريات من أجناس *Mortierella, Trichoderma* and *Verticillium* بالإضافة إلي الأنواع البكتيرية من أجناس *Bacillus* and *Pseudomonas* كثيرا ما يكون لها دورا بارزا في تحليل الكيتين، ويمكن أن يكون استخدام الكيتين صفة مميزة لأجناس عديدة من الفطريات فكثير منها يكون له دورا أساسي في التحليل في الأراضي الحمضية، كما أن هناك أيضا بعض الأنواع البكتيرية لأجناس *Chromobacterium, Cytophaga, Flavobacterium , Micrococcus* لها نفس الدور البارز في التحليل حيث تكون السيادة للبكتريا في الأماكن غير الجيدة الصرف، كما أنه من المعروف أن أنواعاً من جنس *Clostridium* يمكنها تمثيل جزئ الكيتين في غياب O_2 .

وتتضمن عملية تحليل الكيتين تحويل هذا الجزئ غير الذائب إلي نواتج ذائبة في الماء تمر إلي داخل الخلية وتعمل علي إمدادها بالطاقة والكربون وأحيانا بالنيتروجين اللازم للنمو، والإنزيمات المسئولة عن التحلل عبارة عن إنزيمات خارجية، عادة ما تكون دائمة الوجود في الخلية، وأن نواتج التحلل الشائعة والتي تظهر في المزارع الميكروبية خلال تحليل المركب هي N– أسيتيل جلوكوز أمين وجلوكوز أمين وتتضمن عملية التحلل وجود الإنزيمين التاليين:

(أ) الكيتينيز **Chitinase** الذي يعمل علي فك بلمرة السلسلة وإنتاج أوليجومرات ذات وحدات عديدة من N– أسيتيل جلوكوز أمين ومركبات ثنائية الوحدات يطلق عليها **Chitinobiose**

(ب) إنزيم كيتينوبييز **Chitinobiase** أو الأفضل أن يسمي N– اسيتيل جلوكوز أمينيديز الذي يحلل الأوليجومرات و**Chitinobiose** تحليلا مائيا لإنتاج N– استيل جلوكوز أمين، وإنزيمات الكيتينيز التي أثارت اهتمام كبيرا تعمل علي تكسير الروابط بين الوحدات البنائية للبوليمر بطريقة عشوائية، وهي بذلك من الإنزيمات الداخلية، كما يمكن أيضاً وجود إنزيمات خارجية، ففي بعض الأحيان يكون الكيتينوبيوز هو أكثر نواتج التحليل تواجدًا، بالإضافة إلي هذين النوعين من الإنزيمات فإنه يمكن أن تكون هناك حاجة إلي إنزيم ثالث يعمل علي بدء مهاجمة الكيتين بحيث يحول الجزئ

الطبيعي منه إلي صورة مناسبة لفعل إنزيم الكيتينيز، يتحول مركب N- أسيتيل جلوكوز أمين المتكون في نهاية مرحلة التحليل إلي حمض خليك وجلوكوز أمين مع انطلاق الأمونيا من هذا المركب الأخير أو أحد مشتقاته، والجلوكوز أمين أو المركب المتكون عنه يسهل مهاجمة الميكروبات له واستخدامه في داخل الخلية كمصدر للكربون والطاقة.

والمعادلات التالية توضح خطوات تحلل الكيتين بواسطة الميكروبات:

$$\text{Chitin} \xrightarrow{\text{Chitinase}} \text{Oligomers} + \text{Chitinobiose}$$

$$\text{Chitinobiose} \xrightarrow{\text{Chitinobiase}} \text{N-acetylglucose amine}$$

$$\text{N-acetylglucose amine} \longrightarrow \text{Glucose amine} + \text{Acetic acid}$$

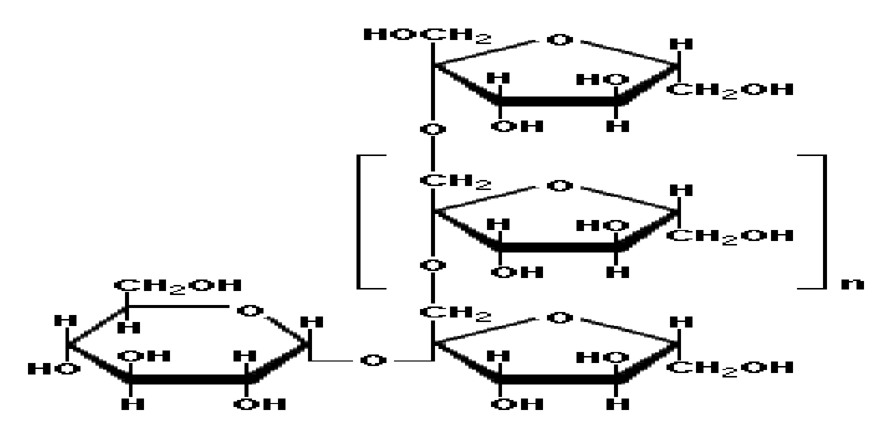
$$\text{Glucose amine} \xrightarrow{\text{Deaminase}} \text{Glucose} + NH_3$$

$$\text{Glucose} \xrightarrow{\text{Aerobic conditions}} CO_2 + H_2O$$

$$\text{Glucose} \xrightarrow{\text{Anarobic conditions}} CO_2 + \text{Alcohols} + \text{Organic acids} + CH_4$$

تحليل الإنيولين Inulin decomposition

يتواجد الإنيولين بكثرة كمادة كربوهيدراتية مخزنة بدلاً من النشا في جذور ودرنات وسوق النباتات مثل الداليا والخرشوف وكذلك يتواجد في الأوراق، ومن حيث التركيب الكيماوي فإن الإنيولين مادة سكرية معقدة تتركب من وحدات سكر الفراكتوز Fructosan ويحتوي جزيء الإنيولين علي حوالي ٢٥-٢٨ جزيء فراكتوز والرابطة تكون ما بين ذرة١ , ٢ ومن النوع البيتا β-2-1 fructofructose units وفي بعض الأنواع من الإنيولين توجد روابط بين ذرات ٦,٢ كما بالشكل التالى.



شكل ١(٢) -٨: وحدات من سكر الفراكتوز في جزيء الإنيولين

وعندما يصل الإنيولين إلي التربة فإن كثير من الكائنات الحية الدقيقة تقوم بتحليله، منها البكتريا مثل *Pseudomonas, Micrococcus, Cytophaga* and *Arthrobacter Clostridium,* كما تقوم بعض الأكتينوميسيتات والفطريات بتحليل الإنيولين، والميكروبات المحللة للإنيولين تفرز Inulinases وهي إنزيمات خارجية تحلل الإنيولين إلي وحدات أصغر تتكون من جزيء إلي ثلاثة جزيئات من الفراكتوز وذلك حسب نوع الإنزيم الذي يفرزه الميكروب ثم يستمر التحليل حتى تتكون في النهاية السكريات البسيطة ويتضح ذلك من خلال المعادلات التالية:

$$\text{Inulin} \xrightarrow{\text{Inulinase}} \text{Fructose}$$

$$\text{Fructose} \xrightarrow{\text{Aerobic conditions}} CO_2 + H_2O$$

$$\text{Fructose} \xrightarrow{\text{Anaerobic conditions}} \text{Organic acids} + \text{Alcohols} + CH_4 + H_2$$

تحليل اللجنين Lignin decomposition

يوجد اللجنين في الجدار الخلوي لكثير من النباتات ونسبة اللجنين تختلف كثيرا من نبات إلي أخر وتتوقف علي عمر النبات، وتتراوح هذه النسبة بين ٥-٣٠٪ من تركيب النبات علي أساس الوزن الجاف، كما تحتوي جدر خلايا بعض الفطريات علي مواد شبيهة باللجنين مثل أجناس ***Aspergillus*, *Humicola*** **and** ***Gliocladium*** وعادة يوجد اللجنين في النباتات مرتبطا بالسليلولوز مكوناً مركبات معقدة من اللجنوسليولوز **Lignocelluloses** وتزداد نسبة اللجنين في جدر الخلايا مع تقدمها في العمر حيث تترسب فيها باستمرار مع زيادة سمك الجذر، وفي العادة فإن عملية الحصول علي اللجنين بحالة نقية لإجراء الدراسات الميكروبيولوجية والكيميائية علي تحلله صعب جداً وذلك لارتباطه بمواد أخري في الأنسجة النباتية، ومن الناحية الكيميائية فإن اللجنين لا يعتبر مادة متجانسة التركيب الكيماوي ولكن يمكن اعتباره مجموعة من المركبات تختلف في تركيبها كثيرا من نبات لآخر، وعموماً فإن مركبات اللجنين غير قابلة للذوبان في الماء الساخن وتقاوم التحلل بالأحماض المعدنية القوية ولا يذوب في المذيبات العضوية المتعادلة ولكنه يذوب في القلويات، ولقد أظهرت الدراسات الفيزيائية أنه يحتوي علي نواة من مركبات عطرية أساساً من مشتقات **Phenyl propane** وتحتوي المركبات الحلقية أو العطرية علي عدد كبير من مجاميع الميثوكسيل CH_3O- ونسبة هذه المجاميع في تركيب اللجنين يختلف من نبات إلي أخر فهي تصل في المتوسط إلي ٢١٪ من اللجنين في الأشجار متساقطة الأوراق ومن ١٥-١٦٪ في النجيليات عموماً، ويمكن القول أن نسبتها لا تقل عن ١٤٪ من تركيب اللجنين والوحدة الأساسية الداخلة في بناء النواة العطرية للجنين يمكن توضيحها كما يلي:

شكل ١ (٢) – ٩ :التركيب البنائى للجنين

وهذه هي الوحدة الأساسية توجد في ثلاث صور وهي:

١-الصورة الأولي وفيها R, R^1 عبارة عن H.

٢-الصورة الثانية وفيها R هي عبارة عن H أما R^1 عبارة عن CH_3O.

٣-الصورة الثالثة وفيها R, R^1 عبارة عن CH_3O.

ونسب هذه الصور الثلاثة تختلف في أنواع النباتات المختلفة مما يؤدي إلي أن نسب مجاميع الميثوكسيل في اللجنين تختلف من نبات لأخر.

وتوضيح التركيب الكيماوي للجنين صعب وهذا ينعكس علي دراسة طريقة التحلل الميكروبي له ونواتج التحلل، لذلك فإن مثل هذه الدراسات عادة ما يستخدم فيها بعض المركبات الداخلة في تركيب اللجنين حتى يمكن تتبع نواتج التحلل ووضع نظريات تحدد خطوات هذا التحلل، والمجموعة الإنزيمية التي تنشط تحليل اللجنين يطلق عليها عادة إنزيم لجنينيز Ligninase ولكن الدراسة عليها وهل هي إنزيم واحد أو مجموعة من الإنزيمات فإنها غير مكتملة للأن.

ولقد أوضحت الدراسات التي يستخدم فيها بعض المركبات الداخلة في تركيب اللجنين مثل α-Conidendrin أن بعض السلالات الميكروبية تستطيع استخدامه كمصدر وحيد للكربون مثل *Flavobacterium* sp.

ولقد اتضح أن التحلل يعطي Vanillic acid الذي يتحول بالتالي إلي Protocatechuic acid كما لوحظ أن كثيرا من فطريات التربة قادرة علي أكسدة Vanillin, Vanillic acid, Syringic acid, Syringaldehyde, Ferulic acid and Hydroxybenzoic acid. وهذه المركبات جميعها تدخل في تركيب اللجنين، وتؤدي الأكسدة لهذه المركبات في العادة إلي كسر حلقات البنزين التي تكون أساسا التركيب. فجميع هذه المركبات تحتوي علي حلقات بنزين، وأغلبها يحتوي علي مجموعات الميثوكسيل $-O-CH_3$ أو الهيدروكسيل $-OH$ أو الكربوكسيل $-COOH$ أو الألدهيد $-CHO$.

وعادة فإنه عند التحلل الميكروبي تختفي مجاميع الميثوكسيل والسلاسل الجانبية علي النواة العطرية أولا قبل تكسير النواة، وباختصار يمكن القول أن جزيء

اللجنين يحدث له تحلل إلي مركبات عطرية بسيطة أولا Depolymerization بواسطة إنزيمات خارجية تفرزها الميكروبات في الوسط ثم بعد ذلك تزال مجاميع الميثوكسيل من هذه الجزيئات وتبقي مشتقات البنزين التي بعد ذلك يحدث لها تكسير للحلقات العطرية، ويوجد بعض الأراء التي تشير إلي أن إزالة مجاميع الميثوكسيل قد تتم قبل تحلل الجزيء إلي مركباته العطرية.

يعتبر اللجنين من أبطأ المواد الكربونية في التحلل في الأراضي ، لذلك فإن نسبته ترتفع باستمرار مع تقدم عملية تحلل المواد العضوية المضافة للتربة وذلك نتيجة للسرعة التي يتم بها تحلل المواد الكربونية الأخرى مقارنة باللجنين، وتعتبر سرعة تحلل السليولوز علي سبيل المثال ثلاثة أضعاف سرعة تحلل اللجنين، وعلي سبيل المثال فإنه لو أضيف إلي التربة مادة عضوية نباتية تحتوي علي ١٥ ٪ لجنين فإنه بعد ٦ شهور من بدء التحلل ترتفع نسبة اللجنين في المادة المتحللة إلي ٣٠٪ وبذلك ترتفع نسبة المواد الفينولية العطرية في المواد العضوية وهذه تتحد مع مركبات نيتروجين ومركبات أخري لتكوين الدبال Humus ولذلك فالدبال غني بالمركبات العطرية.

أما من ناحية الميكروبات التي تحلل اللجنين في التربة فقد لوحظ أن عدد الميكروبات المحللة له في التربة قليلة، فلوحظ مثلاً أن بعض الميكروبات الهوائية العصوية السالبة لصبغة لجرام غير المكونة للجراثيم مثل أجناس ***Pseudomonas* and *Flavobacterium*** قادرة علي تحليله كما تستطيع بعض أنواع من الـ **Actinomycetes** تحليله أيضاً.

ومن أهم ميكروبات التربة من ناحية القدرة علي تحليل اللجنين هي الفطريات وخصوصاً بعض الفطريات التابعة للـ **Basidiomycetes and Ascomycetes** التي تلعب الدور الأساسي في تحليل الأنسجة الخشبية الشديدة الصلابة حيث يستطيع ميسيليوم هذه الفطريات اختراق أنسجة الخشب بمساعدة الإنزيمات الخارجية ومن أمثلة الفطريات المحللة للجنين أو المركبات التي يدخل في تركيبها الفطريات الأتية:

Agaricus, *Armilaria*, *Cladosporium*, *Humicola*, *Polyporus* and *Trichosporon*.

ميكروبيولوجيا الهيدروكربونات

Microbiology of hydrocarbons

يقصد بالهيدروكربونات المركبات التي تتكون من الهيدروجين والكربون فقط. وهناك علاقة وثيقة بين الهيدروكربونات والكائنات الحية حيث إن معظمها إما أن يكون هذه المركبات أو يحتوي عليها ولو بكميات قليلة ، فمثلا نجد أن العديد من بكتريا التخمرات الموجودة بالتربة ومحطات المجاري وكرش الحيوانات المجترة تؤكسد الأحماض الدهنية والكحولات البسيطة للحصول علي الطاقة والإلكترونات التي تستخدمها في اختزال CO_2 إلي الميثان وهو أبسط الهيدروكربونات، وهذا الميثان إما يتأكسد بواسطة بكتريا متخصصة أو يتطاير الجزء الكبير منه إلي الهواء الجوي.

ولقد ثبت منذ ١٨٩٥م أن الكائنات الحية الدقيقة يمكنها تكسير الهيدروكربونات حيث أمكن تحليل غشاء رقيق من البرافين بواسطة الفطر *Botrytis cinerea* ، وبزيادة الأبحاث علي هذا الموضوع وجد أن حوالي ٢٠% من كل الأنواع الميكروبية المختبرة يمكنها تحليل نوع أو أخر من الهيدروكربونات وتعد فطريات التربة مثل *Penicillium glaucum* أكثرها نشاطا ويليها بعض الخمائر ومن البكتريا *Pseudomonas, Mycobacterium*, *Nocardia*

وتدخل الهيدروكربونات عبر مسارات الأيض الغذائى المركزى بعد تعرضها لتفاعلات أكسدة تمهيدية، وتتميز هذه التفاعلات بدخول الأكسجين الجزيئى داخل الجزئ العضوى وارتباطه به، ويشار إلى هذه الخطوة بعملية الأكسدة (إضافة أكسجين) **Oxygenation** وتتم فى وجود إنزيمات الأكسدة **Oxygenases**.

وفى حالة دخول ذرة أكسجين واحدة للجزئ العضوى فإن الإنزيم الذى يقوم بالتفاعل يعرف بـ **Monooxygenase** وعند ارتباط ذرتى أكسجين بالجزئ العضوى يعمل إنزيم **Dioxygenase** ، وتختلف هذه الإنزيمات عن إنزيمات الأكسدة **Oxidases** والتى تقوم بنقل الأيدروجين من المانح إلى الأكسجين مكونا الماء.

وتترتب مجموعات الهيدروكربونات بالنسبة لحساسيتها للتحلل الميكروبي كالتالي:

سلاسل الألكان المستقيمة ←سلاسل الألكان المتفرعة ←ألكين المركبات العطرية←المركبات الحلقية التي تعد أقلها تعرضا للتحلل بل أن كثير منها لا يمكن تحليله بواسطة الكائنات.

تكوين الميثان Methane formation

عند تحلل المادة العضوية تحت الظروف الهوائية يكون الغاز المتصاعد هو CO_2 بصفة أساسية، بينما تنطلق كميات كبيرة من CH_4 من خلال تحلل السليولوز والهميسليلوزات والبروتينات والأحماض العضوية والكحولات عند وجود الأكسجين بنسبة ضعيفة، وعندما يتكون CH_4 بمعدلات كبيرة فإنه من الممكن أن يشكل حجماً كبيراً بالنسبة لكمية CO_2 المنطلقة ، ومع ذلك فإن القدرة علي إنتاج الميثان تعتبر غير شائعة بين أنواع الكائنات الحية عموماً وأن هناك قليلا من الأجناس النشطة في إنتاجه هي التي يكثر انتشارها في الأوساط البيئية المحتوية علي كميات قليلة من O_2.

وتتكون كميات كبيرة من CH_4 خلال مراحل التحلل اللاهوائي للمواد الكربونية في الأراضي المشبعة بالماء. وعلي الرغم من تكون H_2 بصفة عادية كأحد النواتج النهائية لعمليات التمثيل الغذائي اللاهوائى، فإن كمية قليلة فقط من هذا الغاز هي التي تنطلق من الحقول المغمورة بالماء إلي الهواء الجوي حيث يحتمل أن تستخدم البكتريا المنتجة للميثان هذا الغاز كمصدر للطاقة اللازمة لنموها، وعادة ما تنطلق كميات صغيرة من CH_4 من حقول الأرز المغمورة بالماء وذلك بالمقارنة بالكميات المنطلقة من الأماكن المجاورة غير المنزرعة، لكن إضافة المواد العضوية السهلة التحلل يزيد من إنتاج CH_4 إلي درجة كبيرة، بالإضافة إلي أن المواد العضوية البسيطة ومخلفات النبات تناسب إنتاج هذا الغاز فإن CH_4 يمكن أيضاً أن يتكون أثناء تحلل الأسمدة الحيوانية التي تعمل علي إمداد الميكروبات بالعناصر الغذائية مما يؤدي إلي تناقص في كمية O_2 ، ويعتبر إنتاج CH_4 أحد الأنشطة الحيوية الواسعة الانتشار والتي يمكن ملاحظة حدوثها دائما، حيث أن أكثر من ١٠ [١١]

كيلوجرام من هذا الغاز تتصاعد سنويا من مزارع الأرز والمستنقعات. وتتميز البكتريا المنتجة للميثان بعدد من الخواص الفسيولوجية العامة ولكنها تتباين في الصفات المورفولوجية للخلية، فبعضها عصوي أو كروي والبعض الأخر عبارة عن تجمعات من الخلايا الكروية في مكعبات تعرف *Methanosarcina*.

كما توجد أيضاً أنواع محبة للحرارة العالية ، وعلي الرغم من اختلافها في الأشكال المورفولوجية فإن جميع أنواع البكتريا المنتجة للميثان تتشابه في الخواص الكيميائية الحيوية وتوضع جميعها في مجموعة واحدة تسمى Methanogenes في تقسيم Bergey,2001 ضمن الأركيوبكتريا، وتقسم العائلة Methanobacteriaceae إلي أجناس علي أساس الفروق المورفولوجية بين الميكروبات كمايلى:

١- بكتريا عصوية مثل *Methanobacterium, Methanobrevibacter, Methnomicrobium, Methanogenium and Methanothrix*

٢- بكتريا كروية مثل *Methanococcus and Methanosarcina*

٣- بكتريا حلزونية مثل *Methanospirillum*

والميكروبات اللاهوائية المنتجة لغاز الميثان غير قادرة علي استخدام المركبات الكربوهيدراتية العادية أو الأحماض الأمينية الميسرة الاستخدام للكائنات غير ذاتية التغذية، فالمزارع النقية منها لا تقوم بتخمير الجلوكوز أو السكريات الأخرى كما تكون السكريات العديدة مقاومة لتأثير هذه الميكروبات، فالمواد العضوية التي تقوم بتمثيلها هي الأحماض الدهنية ذات السلاسل القصيرة مثل أحماض الفورميك والخليك والبروبيونيك والبيوتريك.

كما تمثل أيضاً الكحولات البسيطة مثل الميثانول والإيثانول والبروبايل والأيزوبروبايل والأيزوبيوتانول والبنتانول أما في المزارع المختلطة فهي تستخدم الأحماض العضوية والكحولات التي تنتجها الميكروبات الأخرى كالتالي:

$$CO_2 + 4H_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O$$

$$4HCOOH \longrightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$$

$$CH_3COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$$

$$2CH_3\,CH_2OH \longrightarrow 3CH_4 + CO_2$$

ويلاحظ أن معظم نواتج تحلل الجزيئات البسيطة تكون عبارة عن CO_2 وCH_4 مع اختلاف نسبة كل منهما إلي الأخر تبعاً لنوع المادة المتحللة.

وميكانيكية تكوين الميثان تكون عن طريق اختزال CO_2، حيث تتخمر الجزيئات العضوية البسيطة ثم تقوم الميكروبات باستخدام CO_2 كمستقبل للإلكترونات أو الأيدروجين ، فإذا لم يتوفر الإمداد بغاز CO_2 أثناء عملية التخمر الميكروبي فسوف يتم إنتاج هذا الغاز من خلال عملية تحلل المركبات العضوية حيث يتم اختزاله بعد ذلك.

$$CH_3-COOH + H_2O \longrightarrow 2CO_2 + 8H^+$$

$$CO_2 + 8H^+ \longrightarrow CH_4 + 2H_2O$$

وعند جمع المعادلتين يكون الناتج كما يلي:

$$CH_3-COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$$

ويوجد طريق أخر يحدث في جنس ***Methanosarcina*** يتم فيه تكوين الميثان من خلال اختزال مجموعة الميثيل الطرفية فى الجزئ مباشرة سواء الموجودة في الأحماض العضوية أو الكحولات قصيرة السلسلة حيث أمكن إثبات ذلك باستخدام C^{14} حيث يحدث نزع لمجموعة الكربوكسيل في حمض الخليك ويتكون CH_4 + CO_2.

$$^{14}CH_3COOH \longrightarrow {}^{14}CH_4 + CO_2$$

إنتاج الغاز الحيوي (البيوجاز)

في ظل التقدم التكنولوجي لاستخدام جميع الموارد الطبيعية للحصول على الطاقة والغذاء للإنسان فإنه لم يعد هناك ما يطلق عليه مخلفات زراعية نظراً لدخولها في دورة الإنتاج الزراعي وتصنيعها والاستفادة منها لذلك تسمى نواتج ثانوية مثل الأحطاب وقش الأرز وأيضاً النواتج الثانوية للإنتاج الحيواني مثل الروث وكذلك مخلفات المجارى.

ولقد أدى التقدم الحضاري للإنسان واهتمامه بالمحافظة على البيئة من التلوث وترشيد استخدام الأسمدة الكيميائية والبحث عن مصادر بديلة للطاقة البترولية الناضبة إلى العودة للزراعة العضوية واستغلال المصادر الطبيعية لإنتاج الطاقة والغذاء والعلف لإنتاج منتجات زراعية ذات قدرة تنافسية عالمية، ويتم ذلك بإتباع تكنولوجيا متطورة ونظيفة ورخيصة تحقق طموح المزارعين في استغلال المنتجات الزراعية الثانوية بطريقة اقتصادية وأمنة بيئياً لتحقيق دخل إضافي من وحدة المساحة الزراعية.

ولقد بدأ الاهتمام بإنتاج الغازات بواسطة الميكروبات منذ زمن بعيد يزيد على المائتى عام، ثم زاد الاهتمام بهذه التكنولوجيا في بلاد العالم المتطورة والنامية منذ نهاية الحرب العالمية الثانية ويوجد الأن ألاف الوحدات العاملة لإنتاج هذه الغازات في بلاد عديدة في أوروبا وأسيا وأفريقيا.

وبالنسبة لمصر فقد أنشأ أول مخمر لإنتاج الغازات ميكروبياً عام ١٩٣٩م في مزرعة الجبل الأصفر باستعمال مخلفات المجارى.

تعريف البيوجاز

هو ذلك المخلوط الغازي الناتج عن تخمير المركبات العضوية عند خلطها بالماء بمعزل عن الهواء الجوى بفعل أنواع متخصصة من البكتريا منتجة غازات الميثان بنسبة ٥٠-٧٠٪ وهو الجزء القابل للاشتعال في المخلوط ، ثاني أكسيد الكربون بنسبة ٢٠-٢٥٪ بالإضافة إلى غازات أخرى بنسب قليلة لا تتعدى ١-٥٪ مثل الهيدروجين، النيتروجين، ثاني أكسيد الكبريت وأثار من كبريتيد الهيدروجين وهو

الذي يعطى الرائحة المميزة للغاز وبجانب هذه الغازات تنتج عدة أحماض عضوية يمثل حمض الخليك أعلى نسبة فيها.

المخلفات العضوية الممكن تخميرها لإنتاج البيوجاز

يمكن استخدام الكثير من المخلفات لإنتاج البيوجاز مثل المخلفات الحيوانية مثل روث الماشية، سماد الدواجن، سبلة الخيول، مخلفات الطيور المنزلية والمخلفات النباتية مثل الأحطاب مثل الذرة والقطن، قش أرز، عروش الخضر، مخلفات الصوب، والمخلفات الأدمية(الصرف الصحي، حمأة المجارى)، والمخلفات المنزلية مثل القمامة، مخلفات المطابخ، بقايا الأطعمة، بقايا تجهيز الخضر والفاكهة، والمخلفات الصناعية(مخلفات صناعة الألبان، والأغذية، والمشروبات، مخلفات المجازر) وأخيرا الحشائش مثل حشائش برية، مائية، ورد النيل بعد نزع الجذور لوجود العناصر الثقيلة بكمية كبيرة.

وتبلغ كمية الناتج من المخلفات الزراعية النباتية في مصر حوالي ٣٠ مليون طن في السنة بالإضافة إلى المخلفات الحيوانية ومخلفات المجارى والمنازل يمكن استخدامها في إنتاج بدائل الطاقة ونظرا لأن غاز الميثان هو المستهدف من الإنتاج البيولوجي فيطلق عليها الأن عملية إنتاج البيوميثان Biomethanation Biomethan production , Methanogenesis.

طاقة الميثان

عند حرق غاز الميثان مع الأكسجين يحدث التفاعل التالي:

$$CH_4 + 2O_2 \longrightarrow CO_2 + 2H_2O$$

وبذلك تنطلق الطاقة في صورة حرارة وذلك من كمية الطاقة الفائضة عن التغير في الروابط الكيميائية بالوقود المؤكسد (CH_4 +O_2) إلى غازات ناتجة (CO_2+H_2O)، علماً بأن الطاقة الكلية للغازات المانحة (CO_2 +H_2O) تكون أقل من تلك الموجودة بالوقود المؤكسد $CH_4 + O_2$ قبل الاحتراق حيث أن جزءا من هذه الطاقة ينطلق كحرارة وضوء داخل اللهب نفسه.

من حيث كمية الحرارة الناتجة فإنه عند مقارنة غاز الميثان بالغاز الطبيعي (المتكون مع البترول والفحم) فإننا نلاحظ أن الغاز الطبيعي يعطى ١٠,٠٠٠ كيلو كالورى/ م٣ ، بينما غاز الميثان يعطى ٨٠٠٠ كيلو كالورى /م٣، أي أن كمية الحرارة الناتجة من غاز الميثان تقارب تلك الناتجة من الغاز الطبيعي ويجب أن نلاحظ أن:

١ كجم وزن جاف من المادة العضوية ← (بالحرق) ٤٥٠٠ كجم كالورى

١ كجم وزن جاف من المادة العضوية ← (بالتخمير) ٠,٥ م٣ بيوجاز ← ٣٠٠٠ كجم كالورى.

ورغم أن كمية الحرارة الناتجة بالتخمير اللاهوائي من وحدة وزن جاف مادة عضوية أقل من تلك الناتجة بالحريق (١ : ٠,٥ ١) إلا أن ما يتبقى من بقايا التخمير من سوائل ومخلفات صلبة ذات أهمية كبيرة حيث تستعمل كأسمدة عضوية علاوة على أنه وقود نظيف صديق للبيئة لأن نتيجة احتراقه عبارة عن ثانى أكسيد كربون وبخار ماء بخلاف أنواع الوقود الأخرى.

عملية الإنتاج

يختلف النظام الذي يتبع في إنشاء وحدات البيوجاز من المخلفات العضوية تبعاً للغرض الذي من أجله تنشأ وحدة البيوجاز وحجم ونوع المخلفات المراد معالجتها ويرتبط حجم ونوع وحدة البيوجاز بعوامل عديدة هي:

١- كمية ونوع المخلفات العضوية بالموقع.
٢- مدى توفر هذه المخلفات على مدار العام أو الشهر أو اليوم.
٣- الهدف من معالجة المخلفات العضوية هو إنتاج الطاقة أو السماد العضوي أو إنتاج الإثنان معاً بنفس الكفاءة.
٤- حجم الطلب على الغاز الناتج ونمط الاستهلاك المطلوب.
٥- طبيعة التربة ومستوى الماء الأرضي.
٦- درجة حرارة الجو بالمنطقة واتجاه الرياح على مدار العام.
٧- مدى تقبل المزارعين لتكنولوجيا البيوجاز.

أساسيات إنشاء وحدة البيوجاز وتركيبها

تتكون وحدة البيوجاز من أربعة أجزاء رئيسية تشمل :

(١) المخمر أو الهاضم (Fermenter (Digester وهو الجزء الأساسي بالوحدة وفيه توضع المخلفات وتتم عملية التخمير ميكروبياً لإنتاج البيوجاز.

(٢) حيز أو خزان تجميع الغاز Gas holder وفيه تجمع الغازات الناتجة من الهاضم ومنه يوجه الغاز إلى أماكن الاستعمال.

(٣) أحواض أو غرف تجميع وخلط مواد التغذية (حوض الدخول).

(٤) غرفة خروج المواد المهضومة (حوض الخروج).

ولضمان الاستفادة القصوى من وحدة البيوجاز يجب أن تزود الوحدة بالآتي:

أ-حوض لفصل الجزء الصلب من السماد وتجفيفه هوائياً وتعبئته وتخزينه لحين الاستخدام.

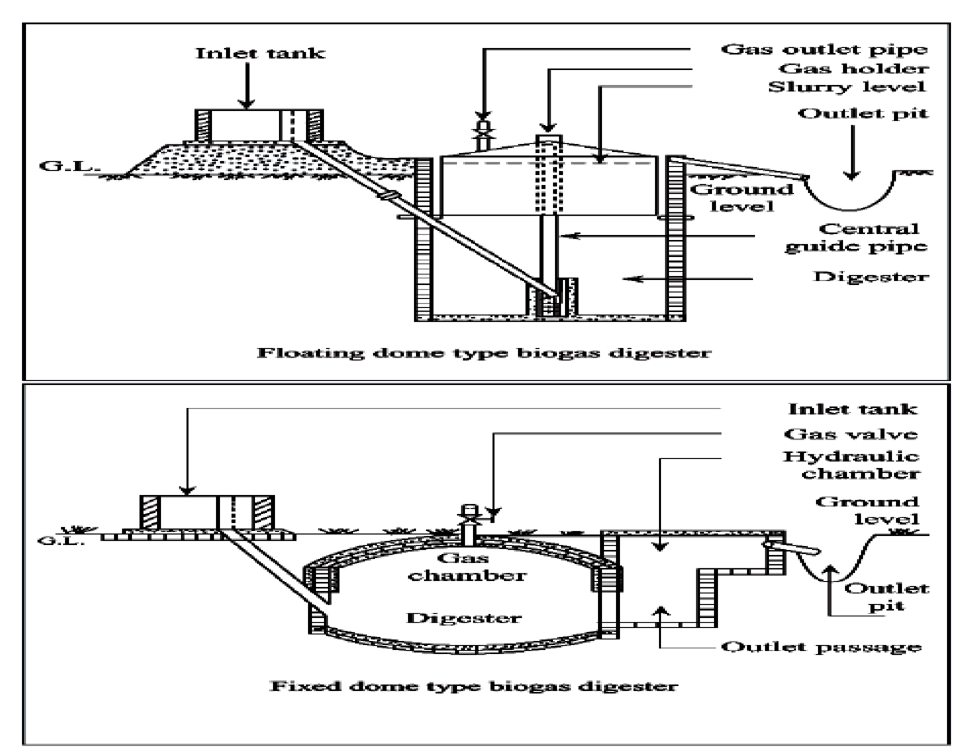
ب-شبكة توصيل الغاز من المواسير الحديد المجلفن أو من خراطيم البولي إيثلين.

ج-معدات استهلاك الغاز التي تعمل على البيوجاز.

د-مانوميتر بسيط من خراطيم البولى اثيلين ومملوءة بالماء الملون لقياس ضغط الغاز.

هـ-مصيدة بخار الماء والتي تركب على خط الغاز قبل توصيله إلى معدات الاستهلاك.

ونجاح تكنولوجيا البيوجاز يتطلب ضبط مكونات النظام لتتكامل مع بعضها محققة الهدف من إنشاء وحدة البيوجاز وهو إنتاج كمية ملائمة من الغاز وإنتاج سماد عضوي جيد ونظيف خال من الملوثات وبأقل تكلفة ممكنة مع تحقيق حماية البيئة من التلوث.



شكل١ (٢) – ١٠ : نظم مختلفة لتصميم مخمرات البيوجاز

وفيما يلي شرح للأجزاء الرئيسية المكونة للوحدة:

الهاضم **Digester**

يختلف حجم الهاضم وهو وحدة إنتاج البيوجاز باختلاف كمية المخلفات المطلوب تخميرها ويوجد نظامان لبناء الهاضم هما:

أ– النظام الهندي. ب– النظام الصيني.

وفي كلا النظامين يبنى الهاضم تحت سطح الأرض، أما مخزن تجميع الغاز فيوجد فوق سطح الأرض في النظام الهندي.

ويبنى الهاضم في النظام الهندي تحت سطح الأرض في صورة حجرة أسمنتية اسطوانية بارتفاع ٤,٥م وقطر٢م للنوع المعتاد به حاجز طولي يقسم الحجرة إلى قسمين لزيادة كفاءة التخمير، وبكل قسم أنبوبة معدنية واحدة لدخول المخلفات Inlet والأخرى لخروج البقايا بعد الاستعمال Outlet، وبجوار أو أعلى الهاضم يقام مخزن تجميع الغازات Gas holder، وهذا الهاضم يمكن أن يستمر في العمل لمدة عشر سنوات.

تشغيل الهاضم

عند بدء التشغيل، يملأ الهاضم بمخلوط من الماء والمخلفات بالحسابات السابقة، ثم يتم التوصيل بخزان الغاز الذي يمتلئ في فترة تتراوح من ١٥–٢٠ يوم، ويراعى التخلص من هذه الكمية الأولى من الغاز حيث أنها تكون مختلطة بالهواء ، وعند اشتعالها تحدث انفجارا، لذلك يستعمل البيوجاز كوقود عند خلوه من الهواء، ويلاحظ أن كمية الغاز الناتجة في فصل الشتاء تقل بدرجة ملحوظة لانخفاض درجة الحرارة في الهاضم وللتغلب على ذلك يستعمل ماء دافئ في تخفيف المخلفات.

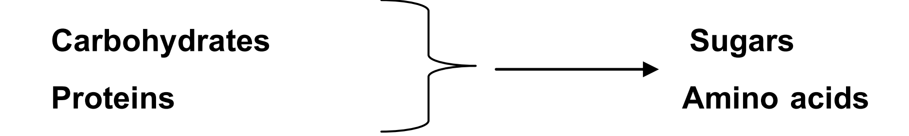
تكون الغاز بيولوجيا Methanogenesis

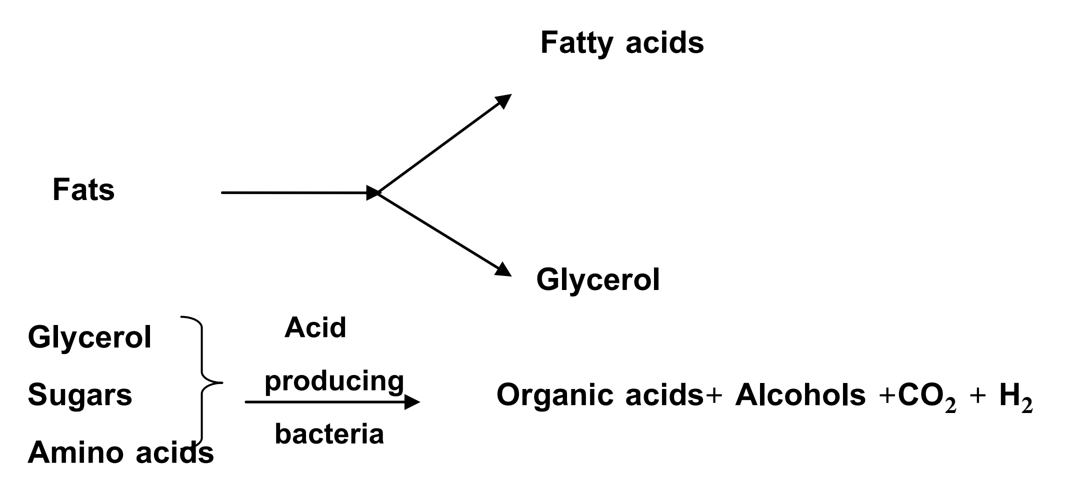
تتم عملية إنتاج غاز الميثان بيولوجياً من المخلفات العضوية نتيجة لتعايش مجموعة كبيرة من الميكروبات، وتبدأ الخطوات الأولى من تحلل المخلفات العضوية هوائياً، ثم باستمرار عملية التحلل يقل الأكسجين تدريجياً حتى تسود في النهاية الظروف اللاهوائية التي تهيء الظروف لتكوين غاز الميثان.

وتمر عملية تحلل المواد العضوية ميكروبياً بالمراحل الرئيسية التالية:

١– المرحلة الأولى: مرحلة تكون الأحماض والمركبات الأخرى قصيرة السلسلة

في هذه المرحلة تنشط البكتريا المترممة العصوية والكروية مثل *B.cereus*, *B.megaterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* and *Ruminococcus* وتحلل المواد العضوية المعقدة إلى مواد أبسط منها، لتنتج في النهاية أحماض عضوية دهنية قصيرة السلسلة مثل الفورميك، الخليك، البروبيونيك، البيوتيريك، وكحولات بسيطة مثل الميثانول، الإيثانول، البروبانول، البنتانول، وغازات مثل CO_2, H_2 , NH_3, H_2S كما يلى:





٢- المرحلة الثانية: مرحلة تكوين حمض الخليك والأيدروجين

في هذه المرحلة تقوم البكتريا بتحليل الأحماض الدهنية المتكونة في المرحلة الأولى وتحويلها إلى حمض خليك وأيدروجين.

Organic acids $\longrightarrow$ **Acetate** $+CO_2$ $+H_2$

٣-المرحلة الثالثة : مرحلة تكوين الميثان بواسطة Methanogenic bacteria

في هذه المرحلة تنشط بكتريا الميثان وتستعمل نواتج تحلل المرحلة الأولى والثانية وتكون غاز الميثان.

Fatty acids , Alcohols, $\xrightarrow{\text{Methanogenic bacteria}}$ CH_4 $+CO_2$

Acetate , CO_2 , H_2

بالإضافة إلى إنتاج غاز الميثان في المرحلة الثالثة ، فقد أضيفت مرحلة رابعة تقوم فيها البكتريا ذاتية التخمر **Homoacetogenic bacteria** بتمثيل الخلات وتكوين الميثان عن طريق اختزال مجموعة الميثيل الطرفية.

Acetate $\xrightarrow{\text{Homoacetogenic bacteria}}$ CH_4 $+CO_2$

وبصفة عامة فإن غاز الميثان ينتج من اختزال CO_2 في وجود المادة العضوية (مصدر الأيدروجين)، ومن حيث الكربون الممثل، فلو فرض استخدام ١٠٠ وحدة كربون للتخمير اللاهوائى بواسطة الميثان، ففي المتوسط يتحول ٥٠٪ من الكربون

إلى بيوجاز ،٥٪ من الكربون يثبت بأجسام الميكروبات، ٤٥ ٪ من الكربون يتبقى بمخلفات بقايا التخمير وتختلف هذه النسبة حسب الغرض من عملية التخمير.

البكتريا المنتجة لغاز البيوجاز

ينتج غاز الميثان بواسطة بكتريا عديدة يطلق عليها **Methanogenic bacteria** وهى ذات أشكال مورفولوجية وتراكيب مختلفة، غير أن لها صفات مزرعية وفسيولوجية متشابهة.

وتتميز بكتريا الميثان عن غيرها من الميكروبات بأنها تحصل على الطاقة اللازمة لها بطريقة تؤدى إلى تكوين غاز الميثان (نتيجة لاختزال CO_2 وأكسدة الإيدروجين)، وهى لا هوائية حتما تنمو عند جهد أكسدة واختزال (Eh) أقل من ٣٠٠ مللي فولت ، ولا تستطيع أن تمثل السكريات البسيطة أو المعقدة كمصدر للكربون ولكن تستخدم الأحماض الدهنية والكحولات البسيطة التي تنتج من تخمر المواد العضوية بواسطة الميكروبات الأخرى ، وتمثل الأمونيا والكبريتيد كمصادر رئيسية للنيتروجين والكبريت، ويناسبها درجة حرارة ٣٠ °م و pH ٧.

كما أن بعض منها يمكنها النمو أوتوتروفياً (CO_2 كمصدر وحيد للكربون) مثل:

***Methanobacterium omelianskii*, *M. formicicum* and *M. thermoautotrophicum* .**

تقسيم البكتريا المنتجة للميثان

وضعت البكتريا المنتجة للميثان حسب تقسيم **Bergey , 2001** في مجموعة البكتيريا الأثرية **Archaeobacteria** حيث أنها أصبحت تحتوى على:

١- ثلاث رتب هى:

Methanobacteriales , Methanococcales and Methanomicrobiales.

٢- أربع عائلات وهى:

Methanobacteriaceae , Methanococcaceae , Methanomicrobiaceae and Methanosarcinaceae.

٣- ٨ أجناس وهى:

Methanobacterium, Methanobrevibacter, Methanococcus, Methanomicrobium, Methanogenium, Methanospirillum, Methanosarcina* and *Methanothrix.

العوامل التى تؤثر على إنتاج البيوجاز

يوجد مجموعة من العوامل التي تؤثر على إنتاج البيوجاز وهى في مجموعها عبارة عن العوامل التي تؤثر على نشاط الميكروبات المنتجة لهذا الغاز ومن بين تلك العوامل:

١- درجة الحرارة: أغلب الميكروبات المنتجة للبيوجاز عبارة عن ميكروبات محبة للحرارة المتوسطة وعلى ذلك فإن درجة الحرارة المناسبة للإنتاج هي حوالي ٣٠ °م.

٢- درجة الحموضة: ينتج الميثان نتيجة لتعاقب تأثير الميكروبات على المخلفات العضوية، وفي مرحلة وسطية من التخمر يزداد تراكم الأحماض العضوية وبذلك يصبح الوسط حمضي غير مناسب لبكتريا الميثان وقد تفشل عملية الإنتاج لهذا السبب، لذلك فإن عملية توازن مناسبة لتطور الحموضة بالوسط أثناء التخمير (بإضافة الجير إن احتاج الأمر) يساعد علي زيادة كفاءة العملية، إذ يناسب بكتريا الميثان الوسط المتعادل أي حوالي pH ٧.

٣- تراكم الأيدروجين: يتكون H_2 أثناء تخمر المخلفات، ويدخل في عملية التخمير وتكوين CH_4، غير أن تراكمه ضار بالعملية، حيث يؤدى إلى تكوين كحولات وبذلك يقل إنتاج CH_4، لذا يجرى اختبار دوري أثناء التخمر لمعالجة الموقف فور حدوث تراكم للهيدروجين.

٤- تراكم كبريتور الأيدروجين: تراكمه كغاز بالمخمر وزيادته عن ٢٠٠ جزء في المليون ضار بعملية تكوين غاز الميثان لذا يحول إلى أملاح كبريتيد بإضافة أملاح الحديد، ويعود التأثير الضار لغاز كبريتيد الهيدروجين على عملية تكوين غاز الميثان، إلا أن له تأثير سام على البكتريا المنتجة لغاز الميثان، كما أنه يرسب العناصر النادرة مثل الحديد، النيكل، الكوبالت ، الموليبدنم، وبذلك يحد من استفادة بكتريا الميثان منها.

٥- غياب الأكسجين: بكتريا إنتاج الميثان لا هوائية حتما ، وهى حساسة لوجود أقل أثار من غاز الأكسجين ويقتلها فورا، لذلك يلزم توفير وسط خالي من الأكسجين لها O_2- free phase، تنمى بكتريا الميثان الأن تحت ضغط مرتفع من H_2, CO_2 في أنابيب مقفولة بالألمونيوم Aluminum seal مثل أنابيب المضادات وذلك لتجنب سمية الأكسجين.

٦- التسمم الأمونيومى Ammonia toxicity: تتراكم الأمونيا بالهاضم نتيجة لعملية التخمر، فإذا ما زاد تركيزها عن ٢٠٠٠ جزء في المليون فإن هذا يثبط عمل بكتريا الميثان، ويقلل تأثير التسمم الأمونيومى بالتحميل المناسب للهاضم والتخفيف المرغوب للخليط وتقصير زمن التخمير.

٧- التحميل Loading: مدى ملأ الهاضم بالمخلفات يؤثر على إنتاج الغاز ويتحكم في عملية الملأ سعة الهاضم، ودرجة تخفيف الخليط بالماء وحرارة وسط التخمير.

٨- التخفيف Dilution: كلما زاد تخفيف المخلفات بالماء في الهاضم كلما تحصلنا على نتائج أفضل، لأن الماء يعمل على طرد الهواء من الهاضم قبل بدء الإنتاج كما يساعد على تكاثر الميكروبات وتجانس توزيعها في الخليط وتقليل اللزوجة به وتختلف نسبة التخفيف حسب نوع المخلفات.

٩- اللزوجة Viscosity: زيادة لزوجة الخليط الجاري تخميره أثناء الإنتاج بسبب الصموغ والمواد المعقدة يثبط من نشاط بكتريا الميثان وتمنع تجانس انتشارها بالخليط ويقل تأثير هذا العامل بالتحميل المناسب للهاضم وزيادة تخفيف المخلفات.

١٠- التقليب: تزود بعض وحدات الإنتاج بمقلبات، وهذه تساعد على زيادة كفاءة الإنتاج نتيجة لجودة تقليب خليط المكونات والتوزيع المتجانس للميكروبات بالخليط وتكسير الصموغ والرغاوى المتكونة، كما أن تكون أغشية فوق سطح المواد المخمرة بالهاضم يمنع انسياب الغاز لذا يلزم تكسيرها بين حين وأخر.

١١- طبيعة المخلفات المضافة: المواد المستعملة هي المخلفات الأدمية والحيوانية والنباتية، وقد امتد المجال الأن لتشمل مخلفات المجارى والمصانع والمصارف والحشائش وغيرها ، ويتوقف الإنتاج ونسبة الغازات على طبيعة تلك المخلفات وتركيبها الكيماوي ونسبة C/N بها، وعموماً فإن المواد ذات المحتوى النيتروجيني

العالي كمخلفات الإنسان والطيور تعتبر أفضلها، وإذا كانت المخلفات المضافة غير غنية في النيتروجين والفوسفور فإنه يلزم إضافة هذه المواد بكميات مناسبة للخليط.

سماد البيوجاز Biogas manure

يطلق على المخلوط المتبقي من عملية تخمير المخلفات العضوية أو المحلول الخارج من المخمر اسم سماد البيوجاز ويتميز هذا المحلول بعد إنتاج البيوجاز بأن رائحته مقبولة ولا تجذب إليه الحشرات والذباب والبعوض ويخلو هذا المحلول من الميكروبات والطفيليات المرضية أو بتخفيض العدد فيها بدرجة كبيرة مما يجعل تداولها والتعامل معها أكثر أمناً من الناحية الصحية عن التعامل مع المخلفات العضوية الأصلية قبل عملية التخمر.

ويتوقف المحتوى التركيبي لهذا المحلول على عدة عوامل أهمها:

١- أنواع المخلفات الأصلية الداخلة في عملية التخمر.

٢- الظروف السائدة أثناء عملية التخمر.

٣- مدة بقاء المادة العضوية داخل المخمر.

تمر المواد العضوية بمراحل متتالية ومتناسقة من التحليلات البيولوجية حيث يتغير تركيب هذه المواد منتجة في نهاية الأمر البيوجاز تاركة المواد التي لم تتحلل في صورة محلول أو مخلوط التخمير، ومن المعروف أن حوالي ٣٠٪ من وزن المادة العضوية يتم تخميرها منتجة البيوجاز في حين يبقى باقي المادة العضوية في صورة محلول معلق تركيزه يتراوح ما بين ٥-٧ ٪ مادة صلبة.

وأثناء عملية التخمر يحدث الفقد أساسا في عنصر الكربون حيث أن التحلل يحدث غالبا للمواد الكربوهيدراتية والدهون، أما المواد البروتينية فإنه على الرغم من تعرض جزء من هذه المواد للتحلل أثناء عملية التخمير إلا أن ذلك يصاحبه في نفس الوقت عملية تخليق نشطة لتكوين خلايا البكتريا المسئولة عن عملية تحلل المواد العضوية مما يعنى أن نسبة البروتين في المخلوط الناتج ربما تزيد عن نسبته في المخلفات الأصلية الداخلة للمخمر وبالتالي فإن نسبة عنصر النيتروجين لا تتأثر بل ربما تزداد نتيجة عملية التخمير.أما باقي العناصر مثل الفوسفور والبوتاسيوم وأيضاً العناصر الصغرى مثل الزنك والحديد والنحاس والماغنسيوم والمنجنيز فإنها تبقى

جميعها بنفس الكميات وإن كانت نتيجة للفقد في المادة العضوية، أما المواد الأخرى مثل اللجنين والتانين فإنها أكثر مقاومة للتحلل الميكروبي إلا أنها تتعرض للتحلل الجزئي مكونة مواد مركبة ولكن أقل تعقيدا من المواد الأصلية تعرف باسم الدبال مما يكسب سماد البيوجاز صفة مميزة بوجود هذه المركبات وهى صفة تحسين مواصفات التربة الزراعية عند معالجتها بهذا المخلوط .

ويتكون سماد البيوجاز الناتج بعد إنتاج الغاز من طبقتين هما:

(أ) الطبقة السائلة **Effluent**: وتحتوى على عدد من المركبات والأملاح الذائبة وتستعمل فى رى المزروعات وتسميدها، كما يمكن استعمالها فى تنمية الطحالب الخضراء مثل طحلب الكلوريلا والذى يستخدم فى تغذية الأسماك أو كمصدر جيد للبروتين فى العلائق.

(ب) الطبقة الصلبة **Sludge**: وتتكون أساسا من مركبات غير ذائبة بعضها مركبات عضوية والبعض الآخر أملاح غير عضوية مترسبة ويحتوى الجزء السائل على قدر من العناصر الغذائية أقل بكثير عن تلك الموجودة في الجزء الصلب وتستخدم الطبقة الصلبة كسماد عضوى للأراضى يعرف بسماد البيوجاز.

استخدامات سماد البيوجاز

يتميز سماد البيوجاز عن الأسمدة العضوية الأخرى باحتوائه على نسبة عالية من العناصر السمادية مثل النيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم والعناصر الصغرى مما يضعه في مرتبة الأسمدة المتكاملة بل باحتوائه على بعض منظمات النمو والفيتامينات علاوة على مادة الدبال وهى المادة العضوية الأساسية التي تحافظ وتحسن من خصائص التربة الزراعية، كما أن سماد البيوجاز يؤدى إلى تنشيط البكتريا والفطريات وكذا بكتريا تحليل السليولوز الهوائية وبكتريا تثبيت النيتروجين بالإضافة إلى رفع معدلات امتصاص النيتروجين والفوسفور.

ويستخدم سماد البيوجاز إما في صورته المختلطة أو بفصل السائل عن الجزء الصلب وفي هذه الحالة يضاف السائل مباشرة إلى الأرض مع مياه الري في حين يخزن الصلب إلى أن يحين وقت استخدامه فيخلط بالأرض مثل سائر الأسمدة

العضوية وفي حالة استخدام السماد في صورته المختلطة فهناك عدة وسائل للاستخدام هي:

١- استخدام مخلوط السماد في صورته السائلة مباشرة.

٢- التجفيف المباشر تحت الظروف الجوية العادية.

٣- تحميله على كمية من التربة (بنسبة ١:١ تقريباً).

٤- خلطه مع كمية من التربة وكمية من بعض المخلفات النباتية بنسبة (١:١:٢) وتركه لعملية الكمر الهوائي لفترة ولحين الاستخدام.

وتشير تحاليل سماد البيوجاز إلى احتوائه على بعض الفيتامينات ولا سيما فيتامين B12 حيث أن نمو البكتريا بالمخمر يتطلب تواجد هذا الفيتامين، كما يحتوى السماد على منظمات النمو والهرمونات النباتية الطبيعية.

ويوضح الجدول التالي التحليل الكيمائي لسماد البيوجاز.

الخاصية	الوحدة	المدى
الرطوبة	٪	٢١-٢٦
المادة العضوية	٪	٤٩-٥٧
الكربون العضوي	٪	٢٨-٣٢
العناصر السمادية الكبرى		
الأزوت الكلى	٪	١,٤ – ١,٩٦
الفوسفور الكلى	٪	٠,٧٢- ١,٥
البوتاسيوم الكلى	٪	٠,٤٥ – ٠,٩٥
نسبة الأزوت /الكربون	C:N ratio	٢٠ :١ – ٢٢: ١
pH	–	٧,٢ – ٧,٤
العناصر السمادية الصغرى		
الزنك (Zn)	ppm	١٢-٧٢
الحديد (Fe)	ppm	٢٠-٦١٠
المنجنيز (Mn)	ppm	٣٦-٥٢

النحاس (Cu)	ppm	١١-٠,٨
درجة التوصيل الكهربائي	Dsm	٥-١
القدرة على الاحتفاظ بالماء	٪	٣٩٠-٢٦٩
الكثافة	كجم / م٣	٤١٠-٢٨٠
الرائحة	-	لا توجد

استخدام سماد البيوجاز كعلف حيواني

تستخدم المادة العضوية بعد ترشيحها من المحلول كمواد إضافية الأعلاف وذلك لاحتوائها على نسبة مقبولة من البروتين وفيتامين B12 ، ويتم فصل المادة العضوية من المحلول بعمليات الترشيح البسيطة .

استخدام سماد البيوجاز في إنتاج الطحالب والأزولا

في حالة استخدام المادة الصلبة في تغذية الحيوان أو خلافه فإن محلول الترشيح يمكن استخدامه في إنتاج الطحالب والأزولا نظرا لاحتوائه على كثير من العناصر الذائبة والمعادن وبذلك يمكن إنتاج أعلاف غنية بالبروتين(٣٠- ٤٠ ٪ بروتين)، وتربى الطحالب والأزولا عادة في أحواض مائية ضحلة وتتميز عامة بالإنتاج الكثيف وهى تعتبر لذلك وسيلة جيدة لتوفير الأعلاف للحيوانات والطيور

الكائنات الممرضة بالمخلفات

تقع الكائنات الممرضة التي توجد بالمخلفات البرازية الأدمية والحيوانية في أربع مجاميع رئيسية:

1- Viruses as Poliomyelitis, Hepatitis, Gastroentetis.
2- Bacteria as *Salmonella*, *Shigella*, *Cholera*, *Enteritis*, *Leptospirosis*.
3- Protozoa as *Amoebic dysentery*.
4- Helminthes as Round, Pin, Hook worms, Liver fluke and Bilharzias.

وفي عملية تخمير هذه المخلفات عند درجة ٣٥°م لمدة أسبوعين لإنتاج الغاز فإن نسبة كبيرة (أكثر من ٩٠٪) من هذه الكائنات الممرضة يموت خاصة الميكروبات العصوية المرضية غير أنه لوحظ أن بعض الكائنات الممرضة خاصة بويضات ديدان الإسكارس Round worms تعتبر شديدة المقاومة وتبقي حية بعد عملية التخمير.

وفي مثل هذه الظروف فإنه ينصح قبل وضع المخلفات بالهاضم لإنتاج البيوجاز بعمل Pre-composting تحت ظروف لاهوائية لمدة ٣-٤ أيام لهذه المخلفات للتخلص مما بها من كائنات ممرضة.

الأهمية الاقتصادية للبيوجاز

يستخدم البيوجاز الناتج من التخمير اللاهوائي للمخلفات العضوية في أغراض عديدة منها:

١- التدفئة والإنارة والطهي وتوليد الكهرباء أي بديل لمصادر الطاقة التقليدية.

٢- إنتاج البروتين الميكروبي وذلك باستعمال الغاز لتنمية بعض الميكروبات مثل *Pseudomonas methanitrificans* فهذا الميكروب يستعمل الميثان كمصدر وحيد للكربون، كما أنه يقوم بتثبيت أزوت الهواء الجوي وقد وجد أنه عند تخمير طن من زرق الدجاج تحت ظروف لاهوائية وإمرار الغازات الناتجة في بيئة خالية من الكربون والنيتروجين ملقحة بالميكروب السابق ومحضنة علي درجة ٣٠°م لمدة أسبوعين فإنه نتج ٢٨,١٧ كجم من الخلايا البكتيرية الجافة التي تحتوي ١٥,٨٥ كجم بروتين خام .

٣- استعمال بقايا التخمير Digested slurry

أ-المخلفات الصلبة Sludge تستعمل كسماد عضوي للأراضي ، فهو سماد غني بما تحتويه من كميات كبيرة من النيتروجين (حوالي ٢٪) والفوسفات والبوتاسيوم ومعظم العناصر النادرة والهرمونات النباتية الطبيعية والفيتامينات ومنظمات النمو Growth factors.

ب-أما السوائل الناتجة **Effluent** فتستعمل في ري المزروعات وتسميدها كما يمكن استعمالها في تنمية الطحالب الخضراء عليها مثل الكلوريللا ***Chlorella ellipsoids*** الذي يستعمل لتغذية الأسماك أو كمصدر جيد للبروتين في العلائق.

٤- التخلص من المخلفات الأدمية والحيوانية خاصة في الريف مما يؤدي الرفع المستوي الصحي بالتخلص من التلوث الميكروبي والحد من انتشار الذباب.

٥- توفير غاز قابل للاشتعال في الأرياف بديلاً للأحطاب والمخلفات النباتية التي يمكن استخدامها كسماد عضوي، ويتميز السماد العضوي الناتج من بقايا التخمير عن السماد العضوي المصنع بالطريقة التقليدية في أن الفقد في المادة العضوية والنيتروجين يقل بدرجة ملحوظة مما يزيد من قيمته كسماد.

بعض المصاعب التي تقابل المنتج للبيوجاز

١- ارتفاع تكاليف إنشاء وحدة الإنتاج ، خاصة إذا أستعمل لبنائها الخرسانة والطوب الأحمر.

٢-عدم القدرة علي التحكم في كل ظروف الإنتاج من حرارة ، **pH** ، التخفيف ، التحميل ، اللزوجة ، تراكم الأمونيا.

٣-صعوبة عزل وحفظ مزارع بكتريا الميثان وكذلك صعوبة تحضير لقاح من بكتريا الميثان ولذلك فإنه عند إنشاء وحدة بيوجاز جديدة ويراد تشغيلها فيؤخذ جزء من المواد المتخمرة من وحدة بيوجاز قديمة تعمل بكفاءة كمصدر لبكتريا الميثان .

تكون غاز الإيثلين

يوجد مركب أخر بسيط من المركبات الهيدروكربونية المتطايرة الذي كثيرا ما ينطلق من التربة وهو غاز الإيثلين ($H_2C = CH_2$) والذى يتكون تحت الظروف سيئة التهوية، وقد عرف أن هناك قليلا من الفطريات يمكنها إنتاج هذا الغاز عند نموها في مزارع ميكروبية ولكن التقديرات الحديثة قد أظهرت أن هذه القدرة علي تخليق الإيثلين ليست شيئا نادراً حيث أن أجناس الفطريات ***Agaricus, Alternaria, Aspergillus, Cephalosporium, Chaetomium, Fusarium, Mucor, Penicillium*** **and** وأجناس الخمائر

Candida and *Trichosporon* بالإضـافة إلـي البكتريـا مـن جـنس *Pseudomonas* والبكتريا المتجرثمـة وكذا الأكتينوبكتريا لها القدرة علي تخليق الإيثلين علي الأقل عند وجودها تحت الظروف المعملية، وتصاعد الإيثلين من التربـة يعتبر من الأمور ذات الأهمية الخاصة لأن هذا الغاز يؤثر علي استطالة جذر النبات كما يسرع من إنبات البذور، وقد أوضحت تحليلات التربة سواء في المعمل أو الحقل أن الإيثلين يتكون بالفعل بكميات تكفي للتأثير علي النباتات الراقية، يتكون الإيثلين في التربة بالطرق الحيوية حيث أن إنتاجه يكون بكميات في صورة أثار بسيطة في التربة المعقمة بينما يتكون بكميات كبيرة في وجود قليل من O_2.

وإضافة المادة العضوية مع زيادة مستوي الرطوبة في التربـة يناسب أيضاً انطـلاق الإيثلـين ولـم تعـرف بالضـبط العوامـل المسـببة لتخليـق هـذا النـوع مـن الهيدروكربونات تحت الظروف الطبيعية ولكن تركز الاهتمام علي دراسة أنواع البكتريا المتجرثمة والفطريات المنتجة له ، ولا يقتصر الإيثلين المخلق حيويا في تأثيره علي الأجزاء النباتية الموجودة تحت سطح التربة بل أيضاً يمكن أن يتصاعد هذا الغاز إلي أعلي ويدخل إلـي المجمـوع الخضـري للنبـات حيـث يمكنـه إحداث عـدة أنـواع مـن التأثيرات، يضاف إلي ذلك أن لهذا المركب تأثيرا ساماً علي بعض الفطريات حتى عند وجوده بتركيزات قليلة ، وبذلك يكون لإنتاجه تأثير علي التغير في التركيب الميكروبي للكائنات وعموما فإن الظروف المناسبة لتكون غاز الإيثلين بالتربـة بيولوجياً هى وجود مواد عضوية مع نسبة قليلة من الأكسجين ونسبة مرتفعة من الرطوبة وعموماً فإن غاز الإيثلين الناتج يتحلل تحت الظروف الهوائية بفعل ميكروبات التربة.

أكسدة الميثان فى التربة Methane oxidation in soil

من الناحية الحيوية يتميز الميثان عن باقي الهيدروكربونات الغازية في نقطتين، الأولى أنه المركب الوحيد الذي تنتجه الميكروبات بكميات ضخمة والثانية أن الكائنات الدقيقة غير النشطة في تمثيل جزيئات الهيدروكربون الكبيرة تقوم بتمثيل هذا الغاز.

وكثيرا ما تحتوى الأراضي المزروعة بالأرز علي طبقة رقيقة علي سطح التربـة تتم فيها أكسدة الميثـان ، ولعزل الكائنـات الدقيقـة القائمـة بعمليـة الأكسدة في هذه

الطبقة فقد استغلت ظاهرة قدرة هذه الميكروبات علي النمو في البيئات الغذائية غير العضوية والمحضنة في وجود خليط من CH_4 مع O_2، وتوجد الميكروبات المؤكسدة للميثان والتي يطلق عليها Methanotrophic أيضاً في الأراضي جيدة الصرف وبوجه خاص في الأماكن المحتوية علي كل من CH_4 و O_2 ، كما يمكن لهذه الميكروبات أن تعيش علي حساب الميثان الناتج من الطبقات العميقة من التربة نتيجة التحلل اللاهوائى بها، ويبدو أن هذه الميكروبات يزداد وجودها في الطبقات السفلية أكثر منها بالقرب من السطح ، يستهلك O_2 أثناء أكسدة الميثان مع إنتاج CO_2 وأن كل جزئ جرام من الميثان يلزم له من الناحية النظرية جزيئين جرام من O_2 .

$$CH_4 + 2O_2 \longrightarrow CO_2 + 2H_2O$$

يوجد فريقان من الباحثين لكل منهما نظريته الخاصة فيما يتعلق بالميكروبات المسئولة عن أكسدة الميثان، الفريق الأول يعتبر أن استخدام الميثان يقتصر علي أنواع متخصصة من البكتريا التي يمكنها استخدام الميثان والميثانول كمصدر وحيد للكربون ولكن لا يمكنها استخدام الهيدروكربونات الأليفاتية الأخرى كمصدر لكل من الكربون والطاقة اللازمين للنمو، وهذه يطلق عليها أحياناً اسم البكتريا ميثيلية التغذية Methylotrophs وهي هوائية حتماً وذات أشكال وأحجام متباينة وهي تقسم إلي أجناس *Methylomonas, Methylococcus, Methylobacter, Methylocystis*.

أما وجهة النظر الثانية فإنها تشير إلي وجود ميكروبات أخرى غير ذاتية التغذية قادرة علي أكسدة الميثان معظمها يتبع جنس *Mycobaterium* تستخدم الميثان بالإضافة إلي عدد أخر من الهيدروكربونات الأليفاتية كمصدر للكربون.

وقد وجد بالإضافة إلي ذلك أن هناك أنواعاً من البكتريا تتبع أجناسا أخرى علاوة علي الفطريات من جنسي *Cephalosporium, Penicillium* تقدر هي الأخرى علي استخدام الميثان، وأن كثيرًا من هذه الميكروبات تنمو في البيئات الغذائية المحتوية علي سكريات أو أحماض عضوية كمصادر للكربون ونتائج الدراسات تشير بوضوح إلي أن مسار أكسدة الميثان يتم طبقا للمعادلة :

$CH_4 \longrightarrow CH_3OH \longrightarrow HCHO \longrightarrow HCOOH \longrightarrow CO_2$

ميثان ميثانول فورمالدهيد حمض فورميك

أكسدة الهيدروكربونات الأليفاتية

Oxidation of aliphatic hydrocarbons

تستجيب ميكروبات التربة لإضافة البارافين والبترول ومنتجاته وكذلك المركبات الهيدروكربونية الأخرى، حيث تقوم المجموعات الميكروبية الناشئة عن الإضافة باستهلاك هذه المواد والعمل علي اختفائها من التربة، هذا النوع من التحولات يعتبر ذو أهمية كبيرة بالنسبة لدورة الكربون في الأرض، لأن الشموع ومختلف المركبات الأخرى للأنسجة النباتية تحتوى علي الهيدروكربونات الأليفاتية ، وقد وجد أن الهيدروكربون أو المركبات المشابهة له في التركيب تمثل ٠,٠٢٪ تقريباً من الأنسجة النباتية. يوجد مصدر أخر لهذه المركبات في التربة وهو ميكروبات التربة نفسها التي يمكنها تخليق أنواع مختلفة من الهيدروكربونات أو الجزيئات المشابهة لها. فهناك مثلا بعض أنواع من البكتريا والطحالب وجراثيم الفطريات تحتوى خلاياها إما علي هيدروكربونات أليفاتية أو مواد مشابهة في تركيبها البنائي للهيدروكربونات. ربما تقوم الميكروبات المؤكسدة للمواد الهيدروكربونية أيضاً بتمثيل الزيوت التي تستخدم كمواد حاملة لمبيدات الأفات أثناء الرش والتي تصل إلي التربة حتي عند رش الأجزاء الخضرية للنبات بالإضافة إلي ذلك فإن طبقة التربة الواقعة أسفل الطرق الأسفلتية تحتوى علي أعداد كبيرة من البكتريا القادرة علي استخدام الأسفلت.

وتدل قصر مدة بقاء الأنواع العديدة من الهيدروكربونات في التربة إلي وجود مجموعات ميكروبية تقوم باستخدامها بشراهة ، ولقد وجد عند إضافة البارافين كمادة غذائية للنمو أن أعداد الميكروبات قد تصل إلي أكثر من ١٠^٥ في الجرام، فالمركبات التي تستخدمها الميكروبات تشتمل علي البارافين والكيروسين والجازولين وزيوت التشحيم المعدنية والإسفلت والقطران والمطاط الطبيعي والصناعي ، كما يتحلل أيضا الميثان والإيثان والبروبان والبيوتان والبنتان والهكسان وكثير من الهيدروكربونات الأليفاتية ذات التركيب من نوع C_nH_{2n+2} والتي منها الأنواع ذات ذرة الكربون

الواحدة والأنواع ذات الأربع ذرات من الكربون وهي توجد في صورة غازية تحت درجة حرارة الغرفة الأقل من ٣٠ °م ، وكل هذه المركبات قابلة للتحلل الحيوي، حتى المركبات الصلبة ذات نفس النوع من التركيب كالجزيئات المحتوية على ٢٠ ذرة كربون أو أكثر تقوم الميكروبات بتمثيلها هي الأخرى .

كثيراً ما يحدث تسرب للغاز الطبيعي من الأنابيب تحت سطح الأرض، وعلي الرغم من أن هذا يمثل أحد مشاكل تلوث البيئة فإن هناك توسعا في استخدام هذا الغاز في المدن وضواحيها، ويؤدي تسرب الغاز في بعض الأحيان إلي قتل الأشجار في المدن بمعدل أكبر من موتها بالعوامل الطبيعية الأخرى مجتمعة، ويحتوى الغاز الطبيعي عادة علي نسبة عالية من الميثان وكميات قليلة من الإيثان بالإضافة إلي أثار من المركبات الطيارة الأخرى، وتتكاثر البكتريا القادرة علي أكسدة الهيدروكربونات الطيارة في المنطقة المحيطة بالغاز المتسرب فتقوم باستهلاك O_2 مما يعمل علي إيجاد مواقع فقيرة في الأكسجين ثم تقوم البكتريا بتخليق مركبات يحتمل أن يكون لبعضها تأثير سام علي النباتات، ولذلك فإن تأثر النباتات المجاورة ليس نتيجة وجود الغاز الطبيعي في حد ذاته بل يكون بسبب نقص O_2 وزيادة تركيز CO_2 وربما أيضاً يكون راجعاً إلي وجود المواد السامة التي أنتجتها الميكروبات.

وتوجد أنواع كثيرة من البكتريا يمكنها تمثيل الهيدروكربونات الأليفاتية ذات السلاسل الطويلة أو القصيرة، ولكن هناك نوعاً أو أكثر من الهيدروكربونات الغازية وخصوصاً الميثان لا يمكن لهذه الكائنات الدقيقة أن تؤكسدها ، فقد وجد مثلاً أن أنواعاً كثيرة من البكتريا التي عزلت من التربة المضاف إليها بترول يمكنها استخدام الهيدروكربونات الغازية من إيثان (C_2H_6) وبروبان (C_3H_8) وبيوتان (C_4H_{10}) ولكنها لا تستخدم الميثان ، ويمكن للميكروبات من أجناس *Mycobacterium, Nocardia, Streptomyces, Pseudomonas* and *Flavobacterium* وكذا البكتريا الكروية وعديد من الفطريات الخيطية أن تقوم بتمثيل الإيثان، وتتميز أنواع الميكوبكتريا علي وجه التحديد بأنها أكبر الميكروبات استخداماً لمثل هذه المركبات البسيطة، وبالنسبة للهيدروكربونات ذات الأوزان الجزيئية العالية فإنها تستهلك بواسطة أنواع من الكائنات الدقيقة تتضمن أجناس *Mycobacterium,*

Nocardia, Pseudomonas, Streptomyces, Corynebacterium, Acinetobacter and *Bacillus* كما يقوم بذلك أيضاً جنسان من الخمائر هما *Rhodotorula* and *Candida* بالإضافة إلي عديد من الفطريات.

ويمكن لكثير من الكائنات الدقيقة أن تقوم بتمثيل الهيدروكربونات الأليفاتية التي لا يمكنها استخدامها كمصدر كربوني للنمو وهذا يمثل ظاهرة تعرف باسم التمثيل الغذائي المشترك Co- metabolism وهي قيام الكائن الدقيق بتمثيل أحد المركبات التي لا يمكن للخلية استخدامها كمصدر للطاقة أو كمصدر أساسي من العناصر الغذائية ، ولما كانت عملية التمثيل الغذائي المشترك للهيدروكربونات عادة ما تتضمن عملية أكسدة فإنه أحياناً ما يطلق عليها اسم الأكسدة المشتركة Co- oxidation . ولإثبات حدوث ظاهرة التمثيل الغذائي المشترك لهذه الجزيئات فإنه عادة ما يتم إمداد الميكروبات بمصدر كربوني مناسب للنمو مع إضافة المادة الثانية وهذه تتأكسد في نفس الوقت مع المادة الأولى، ميكانيكية التحلل الميكروبي في أكسدة الهيدروكربون تتم في خطوات متتالية تؤدي إلي إنتاج المركبات المقابلة منه من كحول وألدهيد وحمض دهني.

$$R-CH_3 \xrightarrow{(1)} R-OH \xrightarrow{(2)} R-CHO \xrightarrow{(3)} R-COOH$$

(1) Monooxygenase

(2) Alcohol dehydrogenase

(3) Aldehyde dehydrogenase

وخلال خطوات التحلل تتأكسد أولاً ذرة الكربون الموجودة في طرف المركب، وفي حالة الأكسدة من طرفي المركب تتم بنفس الطريقة ويتحول المركب إلى حمض دهني ثنائي الكربوكسيل في طرفيه ويتحلل الحمض الدهني عن طريق سلسلة من التفاعلات حسب نوع الميكروب المحلل ومن هذه الطرق :

الأكسدة من النوع ألفا α-Oxidation التي يؤكسد فيها ذرة الكربون التي تلي مجموعة الكربوكسيل والأكسدة من النوع بيتا β-Oxidation التي ينتزع فيها ذرتي كربون من نهاية السلسلة ليتكون حمض الخليك.

أولاً: الأكسدة من النوع ألفا α−Oxidation

وفيها تتم أكسدة ذرة الكربون التي في وضع ألفا والتي تلي مجموعة الكربوكسيل وتتم الأكسدة على خطوات حيث تتحول مجموعة الكربون ألفا إلى CHOH ويتكون حمض دهني يحتوى على مجموعة هيدروكسى في الوضع ألفا ثم تتأكسد مجموعة الهيدروكسى إلى مجموعة كربوكسيل مع نزع مجموعة الكربوكسيل الطرفية وبذلك ينتج حمض دهني أقل من الحمض الأصلي بذرة كربون واحدة وتتكرر هذه العملية حتى يتحلل المركب.

$$R-CH_2-COOH \longrightarrow R-CHOH-COOH \longrightarrow R-CH_2OH \longrightarrow R-COOH + CO_2$$

حمض عضوى　　كحولي أولي　　حمض كحولي　　حمض دهنى

ثانياً: الأكسدة من النوع بيتا β−Oxidation

وهى من أكثر طرق أكسدة المركبات الأليفاتية شيوعاً حيث تؤدى أكسدة مجموعة كربون بيتا بالسلسلة إلى إزالة مستمرة لمجموعة أسيتات ويتكون حمض خليك أي أن السلسلة تفقد ذرتي كربون في كل دورة أكسدة، وتبدأ الأكسدة بوجود إنزيم Monooxidases وإنزيم Alcohol dehydrogenase وإنزيم Aldehyde dehydrogenase فتتحول سلسلة الألكان إلى حمض دهني الذي يتم تحويله إلى ثيوإستر مع المرافق الإنزيمي CoA ثم أكسدة لمجموعة كربون بيتا ثم انفصال مجموعة أسيتيل من الحمض الدهنى الذي ينقص عن الحمض الأصلي بذرتي كربون وتستمر هذه العملية حتى يتحلل المركب.

وتوضح المعادلات التالية ذلك:

أ- في البداية يحدث تنشيط للحمض الدهني وتحويله إلي ثيوإستر مرتبط بالمرافق الإنزيمي CoA:

$$R-CH_2-CH_2-CH_3 \longrightarrow R-CH_2CH_2-COOH$$

هيدروكربون　　حمض دهني

$$R-CH_2-CH_2-COOH + HS-CoA \xrightarrow{ATP} R-CH_2-CH_2-CO-SCoA + AMP + 2Pi$$

ب-يتحول الحمض الدهني المرتبط بالـ CoA إلي حمض دهني غير مشبع وذلك بنزع ذرتين هيدروجين.

$$R-CH_2-CH_2-CO-SCoA \xrightarrow{-2H} R-CH = CH-CO-SCoA$$

ج-حدوث تأدرت للحمض الدهني غير المشبع ويتحول إلي حمض دهني به مجموعة هيدروكسيل في الوضع بيتا.

$$R-CH = CH-CO-SCoA \xrightarrow{HOH} R-CHOH-CH_2-CO-SCoA$$

د-يحدث أكسدة لمجموعة الهيدروكسيل إلي مجموعة كيتون ويتكون حمض كيتوني α –keto acid.

$$R-CHOH-CH_2-CO-SCoA \xrightarrow{O2} R- CO - CH_2-CO-SCoA$$

هـ-يحدث تفاعل بين الحمض الكيتوني والمرافق الإنزيمي CoA ويتكون حمض يقل في عدد ذرات الكربون بمقدار ذرتين .

$$R- CO - CH_2-CO-SCoA + HSCoA \longrightarrow R-CO-SCoA + CH_3-CO-SCoA$$

وبهذا يتم إزالة ذرتين كربون من سلسلة الحمض الدهني في كل دورة أكسدة ، ثم يتحلل حمض الخليك داخل الخلية لينتج الكربون والطاقة اللازمين لعمليات التخليق الحيوي، والحمض الدهني المتبقي والذي نقصت منه ذرتي كربون تتم مهاجمته عدة مرات في خطوات متتالية لإنتاج وحدات من حمض الخليك وبذلك يتحلل المركب إلي وحدات أصغر يمكن للخلية استخدامها لإنتاج الطاقة ولعمليات التخليق الحيوي داخل الخلية الميكروبية.

ثالثاً: الأكسدة من النوع أوميجا Omega oxidation

في هذا النوع من الأكسدة للأحماض الدهنية يحدث أكسدة للذرة الأخيرة من الحمض الدهني أي الذرة أوميجا وبذلك يتكون حمض دهني ثنائي الكربوكسيل ، بعد ذلك يحدث أكسدة للحمض الدهني من الطرفين إما بالطريقة ألفا أو بيتا.

تحلل المركبات العطرية

Degradation of aromatic compounds

علي الرغم من أن المركبات العطرية نادرا ما توجد بكميات كبيرة ضمن المواد العضوية التي تصل إلي التربة، فإنها تمثل في الواقع مجموعة هامة من المركبات التي تهاجمها الميكروبات فالوحدات البنائية العطرية هي أساس التركيب البنائي للكميات الكبيرة من اللجنين المتحلل وكذا لمركبات الدبال، فالأنسجة النباتية تحتوى علي مركبات بسيطة ومركبات أحادية الحلقات ذات حلقة بنزين واحدة كما تحتوي أيضاً علي جزيئات أكثر تعقيدا مثل مركبات الفلافونويد والألكالويد والزيوت العطرية والتانينات كما أن الفطريات والأكتينوميسيتات كثيرا ما تقوم بإنتاج مركبات الميلانين وهي عبارة عن بوليمرات من الوحدات العطرية، وكثير من الأحماض الأمينية في المواد البروتينية وكثير من المركبات الصناعية المستخدمة في مقاومة الأفات عبارة عن هيدروكربونات عطرية متحورة، كل هذه المواد المتنوعة تعمل علي إمداد مجموع الكائنات الدقيقة بمجموعة كبيرة من المواد التي تقوم باستخدامها وتحليلها علاوة علي ذلك فإن كثيرا من المواد العطرية له أثر سام علي النباتات الخضراء، وفي الواقع فإنه تحت بعض الظروف الخاصة التي تؤدي إلي تأخير نشاط التمثيل الغذائي الهوائي، فإن هذه المركبات تتراكم في بعض مواقع التربة بحيث تصل إلي تركيزات تسبب أضرارا للنباتات الراقية، وقد تحتوى التربة علي هذه المركبات بتركيزات تصل إلي ٢-٨ ميكروجرام في جرام التربة، وعادة ما تقدر كمية ومدي تحلل هذه المركبات عن طريق قياس CO_2 المنطلق أو O_2 المستهلك أو عن طريق تقدير مدي اختفاء المادة المختبرة، وفي هذه الحالة الأخيرة كثيرا ما تستخدم طرق التحليل الكروماتوجرافي للغاز أو الطرق الكروماتوجرافية الأخرى لهذا الغرض، ويوجد أنواع كثيرة من ميكروبات التربة تقوم بتكسير الهيدروكربونات العطرية ومشتقاتها، كما أن هناك كائنات دقيقة معينة تحلل بعض المركبات مثل الفينول والنفتالين والأنثراسين المحتوية علي حلقة أو اثنتين أو ثلاث حلقات من البنزين علي التوالي، ويبدو أن البكتريا هي أكثر المجموعات الميكروبية قدرة علي معدنة مثل هذه المركبات كالأنواع

التابعة لأجناس ***Pseudomonas, Mycobacterium, Acinetobacter, Arthrobacter* and *Bacillus*** ولكن جنس ***Nocardia*** كثيرًا ما يكون له الدور البارز في هذا المجال، وقد تشارك الفطريات والإستربتوميسيتات تحت ظروف معينة في تحليل الهيدروكربونات العطرية، فالكائنات الدقيقة الخيطية يمكن أن يكون لها دور هام في تحليل بعض أنواع المركبات العطرية التي تدخل في تركيب الدبال، وتنتشر البكتريا المحللة للهيدروكربونات العطرية هوائياً انتشارا واسعاً، فتحتوي جميع أنواع الأراضي تقريباً علي كائنات دقيقة تنمو علي حساب العديد من هذه المركبات فأعداد البكتريا ذات القدرة علي استخدام المركبات الهيدروكربونية مثل البنزين والتولوين والفانيلين والفينانثرين تتراوح بين $١٠^{٢}$ إلي $١٠^{٦}$ في الجرام ويتوقف ذلك علي موقع التربة ونوع المادة الكيميائية، وبالرغم من اختلاف المراحل الأولى من خطوات التحلل فإن التفاعلات تسير في اتجاه تكوين القليل من النواتج الوسطية الأساسية التي يتم تمثيلها هي الأخرى بخطوات قليلة مماثلة، ومن هذه النواتج الوسطية الأساسية الشائع وجودها هي الكاتيكول وحمض البروتوكاتويك وحمض الجنتسيك إلي درجة أقل وكل من هذه المركبات الثلاثة تتميز جزيئاتها بوجود مجموعتين من الهيدروكسيل .

Catechol **Protocatechuic acid** **Gentisic acid**

شكل١ (٢) – ١١ : تركيب بعض المركبات الناتجة من تحلل المركبات العطرية

وغالباً ما تتضمن المرحلة الأولى من مراحل تمثيل المركبات العطرية إحداث تحويرات أو إزالة المجموعات المتصلة علي حلقة البنزين وإحلال مجموعات من الهيدروكسيل محلها، علي ضوء وجود الكثير من المركبات التي تلوث البيئة

والمركبات العطرية الطبيعية فإن هناك عدة نقاط أساسية هامة تنطبق علي هذه المرحلة الأولى من مراحل التحلل هي:

(أ)غالباً ما تتحول مجموعات الميثايل إلي مجموعات كربوكسيل قبل كسر حلقة البنزين وهو تفاعل يستمر علي خطوات.

$R-CH_3 \longrightarrow R-CH_2OH \longrightarrow R-CHO \longrightarrow R-COOH$

وأحياناً لا تتم إزالة مجموعة الميثايل قبل فتح الحلقة.

(ب) كثيرًا ما يتم إزالة مجموعة الكربوكسيل قبل كسر الحلقة ولكن لا يشترط حدوث ذلك دائماً.

(جـ) تحل مجموعة الهيدروكسيل محل مجموعة الميثوكسيل لتكون الفورمالدهيد.

$R-OCH_3 + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow R-OH + HCHO$

(د) عادة ما يقصر طول السلاسل الأليفاتية الطويلة وينتج عنها مركبات ينقصها ذرة واحدة أو ذرتين من الكربون ، وهذا يتم في العادة علي خطوات بواسطة الأكسدة من نوع بيتا كما سبق ذكره.

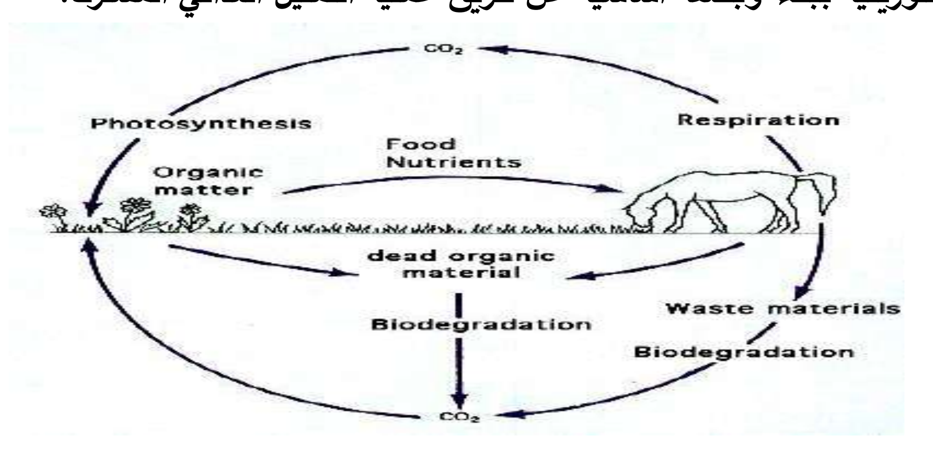
$R-(CH_2)_9\ COOH \longrightarrow R-(CH_2)_7\ COOH + CH_3 - COOH$

(هـ) الكلورينات الموجودة في كثير من مبيدات الحشائش يحل محلها إما مجموعات من الهيدروكسيل أو الأيدروجين أو قد تبقى علي الحلقة بعد فتحها ثم تتم إزالتها بعد ذلك.

(و) مجموعات النيترو (NO_2-) التي تتميز بوجودها في بعض مبيدات الأفات أو المخلفات الصناعية يمكن أن يحل محلها مجموعات الهيدروكسيل، ثم تظهر بعد ذلك في صورة نتريت كما يمكن أن يختزل مجموعات النيترو المتصلة بحلقة البنزين إلي مجموعة أمين (NH_2-).

ولكي يحصل الميكروب النشط علي الطاقة والكربون من هذه التحولات فيجب أن يقوم بكسر الحلقة وتحويل نواتج التكسير إلي مركبات تدخل في عمليات التمثيل الغذائي الخاصة بإنتاج الطاقة والتخليق الحيوي ويلزم دائماً لفتح حلقة البنزين إضافة الأكسجين إليها والذي تحصل عليه الميكروبات من O_2.

ويمكن لكثير من الكائنات الدقيقة أن تقوم بعملية التمثيل الغذائي المشترك عند إمدادها بالمركبات العطرية ولكن لا يمكنها أن تنمو بقوة عن طريق تحليل هذه المركبات حيث أن عملية التحلل لا تتم إلي الدرجة الكافية لإنتاج الكربون والطاقة اللازمين للنمو، ويقوم كثير من الميكروبات وخصوصا الفطريات بإضافة مجموعة الهيدروكسيل دون أن يكون لها القدرة علي فتح حلقة البنزين، كما يمكن أيضاً عن طريق التمثيل الغذائي المشترك أن تقوم الميكروبات بفتح الحلقة وكسر الروابط الأثيرية وإزالة مجموعات النيترو، ومثل هذه التحولات تعتبر ذات أهمية خاصة في تحليل مبيدات الأفات والجزيئات السامة الناشئة عن عملية التمثيل الغذائي المشترك والتي تظهر في التربة ويستمر وجودها لعدة سنوات قد تتجاوز في بعض الأحيان عشر سنوات. وتشكل المركبات الكلورونية ثنائية الفينيل وكذا الألكالينات ثنائية الفينيل أهمية كبيرة حيث أن المجموعة الأولى تتضمن مركبات PCB (Polychlorinated Biphenyl) الشائعة الاستعمال في الصناعة، بينما تشتمل المجموعة الثانية علي DDT (Dichloro-Diphenyl-Trichloroethane) والمبيدات المشابهة له، وتقاوم الجزيئات الكلورينية التحلل فتبقى في التربة لفترات طويلة ، بينما تقوم الكائنات الدقيقة بتمثيل كل من المركبات الكلورينية ثنائية الفينايل والـ DDT إلي حد ما، وباستثناء الكلورينات فإن أياً من المجموعتين الكيميائيتين يتم تحليلهما بسرعة بينما تهاجم الميكروبات نظائرها الكلورينية ببطء وبصفة أساسية عن طريق عملية التمثيل الغذائي المشترك.



شكل١ (٢) ١٢ : رسم تخطيطى لدورة الكربون فى الطبيعة

(الباب الثانى – الفصل الأول)

دورة النيتروجين

يمثل النيتروجين حوالى ٧٨٪ من حجم الهواء الجوى فى حين لا تحتوى الصخور الأصلية ومعادن التربة على هذا العنصر، ولا تستطيع النباتات النامية الاستفادة من النيتروجين الغازى مباشرة إلا بعد أن يدخل فى سلسلة من التفاعلات والتى تقوم بها كثير من الأحياء الدقيقة الموجودة بالتربة والتى تعيش إما حرة فى التربة أو تعيش فى داخل جذر النبات، حيث تثبت النيتروجين الغازى وتحوله إلى نيتروجين عضوى داخل أجسامها فى صورة أحماض أمينية وبروتينات، وعند موت هذه الكائنات فإن النيتروجين العضوى الموجود بها تحت ظروف معينة يتحلل وينتج نيتروجين معدنى فى صورة $NH4^{+}$ ثم $NO3^{-}$.

وتختلف الأراضى الزراعية فى محتواها من النيتروجين وذلك لوجود ارتباط بين هذه الكمية وعدة عوامل أخرى بعضها يتعلق بالظروف البيئية والآخر يتعلق بطبيعة النبات المنزرع وصفات الأرض الطبيعية والكيميائية، حيث إن الأراضى ذات القوام الثقيل محتواها من النيتروجين الممثل بالمادة العضوية مرتفع بالمقارنة بالأرض الخفيفة، كذلك نوع معدن الطين له تأثيره على محتوى الأرض من النيتروجين لاختلاف قدرة هذه المعادن على ادمصاص NH_4^{+} والجزيئات العضوية.

وتتعرض مركبات النيتروجين العضوية وغير العضوية للعديد من التحولات التي تحدث في وقت واحد ، ويمكن التعبير عن مثل هذه التحولات في صورة دورة يتحرك بداخلها هذا العنصر في اتجاهات مختلفة حسب فعل الميكروبات، يتحول جزء بسيط من مخزون النيتروجين الغازى بالجو إلي مركبات عضوية بواسطة بعض الميكروبات التي تعيش علي حالة حرة أو بواسطة بعض الميكروبات التي تتعايش مع بعض النباتات حيث تمدها بما تحتاجه من النيتروجين وذلك من خلال عملية تثبيت أزوت الهواء الجوي، ويستخدم النيتروجين الموجود في البروتينات والأحماض الأمينية المكونة لأنسجة النباتات بواسطة الحيوانات حيث يتحول النيتروجين داخل أجسام الحيوانات إلي مركبات بسيطة وأخرى معقدة، ثم تتعرض بقايا الحيوانات

والنباتات للتحلل بواسطة الميكروبات حيث تنطلق الأمونيا التي تستخدمها النباتات أو تؤكسد إلي نترات ، وقد تفقد النترات بواسطة الغسيل خلال التربة أو تستخدم في تغذية النباتات أو تختزل مرة أخرى إلي أمونيا أو نيتروجين غازي الذي يجد طريقة للجو المحيط مكملا بذلك دورة عنصر النيتروجين .

ومما هو جدير بالذكر أن عنصر النيتروجين يضاف إلي التربة الزراعية في صورة معدنية بسيطة تسمى الصورة غير العضوية، وذلك في صورة أسمدة نشادرية مثل سماد كبريتات الأمونيوم وسلفات النشادر أو أسمدة نتراتية مثل سماد نترات الأمونيوم أو نترات الجير المصري أو في صور سيناميد مثل سماد سيناميد الكالسيوم أو في صورة أميدية مثل سماد اليوريا، أو يضاف النيتروجين إلي التربة في صورة عضوية مثل بقايا النباتات أو أسمدة خضراء أو أسمدة عضوية مثل السماد العضوي الصناعي **Compost** أو السماد البلدي **Farm yard manure** أو سماد البيوجاز أو سماد المجارى أو سماد البودريت.

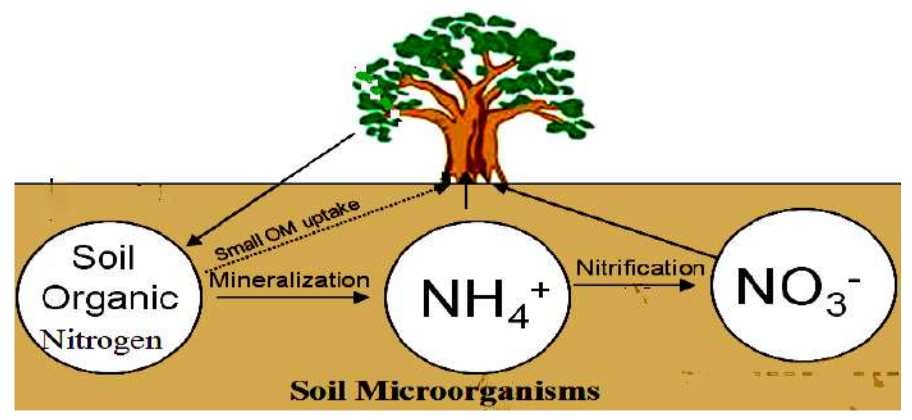
ويجب أن نشير إلي أن النباتات لا تستطيع أن تمثل أو تأخذ احتياجاتها من عنصر النيتروجين إلا في صورة معدنية بسيطة، لذلك فلابد من حدوث معدنة لمركبات النيتروجين العضوية بواسطة ميكروبات التربة وهذه العملية تماثل معدنة مركبات الكربون العضوية وانطلاق ثاني أكسيد الكربون منها وتقوم ميكروبات التربة الزراعية بالعديد من التحولات الحيوية لعنصر النيتروجين في التربة منها:

١. معدنة مركبات النيتروجين العضوية **Organic nitrogen mineralization**
٢. اختزال النترات **Nitrate reduction**
٣. انطلاق الأزوت **Denitrification**
٤. تمثيل مركبات النيتروجين المعدنية **Nitrogen immobilization**
٥. تثبيت أزوت الهواء الجوي **Nitrogen fixation**

معدنة مركبات النيتروجين العضوية

Mineralization of organic nitrogen compounds

تعرف عملية تحول النيتروجين العضوي إلي صور غير عضوية أكثر تحركا وتمثيلا بعملية معدنة النيتروجين والتي تتشابه مع عملية انطلاق CO_2 من المواد الكربوهيدراتية في كون هذين النوعين من التحولات ينتج عنهما انطلاق العناصر الغذائية علي صورة غير عضوية، كما تتشابه العمليتان أيضا في كونهما السبل الوحيدة التي تهيئ إعادة تكوين وإنتاج هذه العناصر في صورة قابلة لاستخدام النباتات النامية، وينتج عن عملية المعدنة تكون كل من الأمونيا ثم النترات بالأكسدة واختفاء المواد العضوية النيتروجينية، حيث يحدد إنتاج كلا المركبين نوعين مستقلين من العمليات الميكروبية وهما "النشدرة" وهى عبارة عن تكون الأمونيا من مركبات النيتروجين العضوية والتأزت" وهى عبارة عن أكسدة الأمونيا إلي نترات، ويمثل إنتاج الأمونيا في الواقع فائضاً في عمليات التمثيل الغذائى للميكروبات حيث يمثل تراكم الأمونيا الكميات الزائدة عن احتياج الميكروبات من المواد الغذائية النيتروجينية في حين تعتبر عملية التأزت من تفاعلات الطاقة التي تقوم بها البكتريا الذاتية التغذية أثناء عمليات التمثيل الغذائى، ولقد أثبتت التقديرات العديدة التي أجريت لمختلف الأراضى أن أعداداً كبيرة من الميكروبات حيث تقترب من $١٠^{٥}-١٠^{٧}$ لكل جرام تربة لها القدرة علي القيام بعملية النشدرة.



شكل ٢(١)–١: معدنة مركبات النيتروجين العضوية

ويعتبر تحلل البروتينات وغيرها من المركبات النيتروجينية في الطبيعة ناشئاً عن عمليات التمثيل الغذائى التي تقوم بها عديد من السلالات الميكروبية مجتمعة حيث تتمكن مجاميع الميكروبات المختلفة من مهاجمة النيتروجين العضوي وإنتاج الأمونيا وتستطيع تقريباً كل أنواع البكتريا والفطريات والأكتينوبكتريا مهاجمة مركبات النيتروجين العضوية، ولكن تختلف الأنواع والأجناس في معدل حدوث التحلل والكميات المستخدمة من المادة العضوية، وتختلف الكمية المنتجة باختلاف الميكروبات المسئولة والمواد العضوية المستخدمة ونوع التربة والظروف البيئية المحيطة.

تحلل البروتين Protein decomposition

تتكون البروتينات من سلسلة طويلة من الأحماض الأمينية حيث يوجد أكثر من عشرون حمض أمينى مختلف ترتبط معاً برابطة ببتيدية NH–CO مكونة سلاسل ببتيدية والتي بدورها ترتبط معا مكونة جزئ البروتين.

وتعرف الإنزيمات التي تحلل الروابط الببتيدية الموجودة في البروتينات بإنزيمات البروتييز Proteases والتي منها نوعان الأول يحلل مائياً الروابط الببتيدية الطرفية في السلسلة الببتيدية وتعرف بإنزيمات الببتيديز الخارجية Exopeptidases، والنوع الثانى يحلل الروابط الببتيدية الداخلية في السلسلة الببتيدية وتعرف بإنزيمات الببتيديز الداخلية Endopeptidases.

ونظراً لكبر حجم جزئ البروتين بدرجة لا تسمح بدخوله إلي الخلية الميكروبية تقوم الكائنات الحية الدقيقة بإفراز بعض الإنزيمات الخارجية المحللة للبروتينات، حيث تتم الخطوة الأولى في تحليل البروتينات خارج الخلية الميكروبية فتعمل الإنزيمات علي تكسير جزئ البروتين لوحدات أبسط إلي صورة قابلة للتمثيل حيث توضح المعادلات التالية ذلك.

Protein ⟶ Proteose ⟶ Peptone ⟶ Polypeptide
Dipeptide ⟶ Amino acids.

وبمجرد تكسير جزئ البروتين خارج الخلية تجد مشتقاته المتكونة طريقها إلي داخل الخلية حيث يستمر الميكروب في تمثيلها غذائيا، ومن المعروف أنه يلزم تمثيل أى مادة غذائية وإجراء التحولات العديدة عليها بداخل الخلية حتى يتمكن الميكروب من استخدام الطاقة الناتجة في النمو.

وتتضمن الميكروبات المحللة للبروتينات بكتريا هوائية بالإضافة إلي بعض الأنواع الاختيارية واللاهوائية حتماً ، وتتكون العديد من المركبات الوسطية خلال عملية تحلل البروتين هوائيا والتي تختفي بسرعة حيث يتكون في النهاية CO_2 وأمونيا وكبريتات وماء، ويتكون عند تحلل المواد الغنية في النيتروجين تحت الظروف اللاهوائية مركبات ذات روائح عفنة ويطلق علي مثل هذه العملية بالتعفن Putrefaction حيث تتمثل النواتج النهائية لعمليات التحلل اللاهوائية في الأمونيا، الأمينات، CO_2، الأحماض العضوية، مركبات الميركبتان وكبريتيد الأيدروجين.

الميكروبات المحللة للبروتين Proteolytic microorganisms

أهم الميكروبات المحللة تشمل معظم أنواع البكتريا التى تنتمي إلي أجناس *Pseudomonas, Bacillus, Clostridium, Serratia* and *Micrococcus* كما تحلل العديد من الفطريات البروتينات والأحماض الأمينية وغيرها من المركبات النيتروجينية بسهولة منتجة كميات كبيرة من الأمونيا، وتشمل الأجناس المحللة كل من *Penicillium, Mucor, Aspergillus, Alternaria* and *Rhizopus* ، وعموماً تطلق الفطريات كميات من الأمونيا أقل منه في حالة البكتريا حيث تستخدم الفطريات كميات كبيرة من النيتروجين في بناء خلاياها، ومما لاشك فيه أن الفطريات تلعب في التربة دوراً أساسياً في تحليل المواد البروتينية خاصة في الأراضى الحمضية، كما تقوم أفراد لا حصر لها من مجموعة الأكتينوبكتريا وخصوصاً جنس *Streptomyces* بإنتاج الإنزيمات الخارجية المحللة للبروتينات، كما وجد أن بعض أفراد الأكتينوبكتريا المحبة للحرارة تقوم بإفراز بعض الإنزيمات المحللة للبروتينات خاصة بعد موت خلاياها وتحللها مما يشير إلي كون هذه الإنزيمات داخلية لا تخرج إلا بعد تحلل الهيفات.

ومما هو جدير بالذكر أن تحلل المواد البروتينية في التربة يحدث ببطء ويرجع ذلك إلي أن المواد البروتينية تكون معقد مع اللجنين الموجود في الدبال ويكون معقد يسمي Protein lignin complex، وهذه المركبات أبطأ في التحلل مقارنة بالتحلل الذى يحدث في البيئات المعملية. ويوجد تفسير أخر يفسر بطء تحلل المواد البروتينية في التربة وهو أن معادن الطين تعمل علي حفظ أو مسك مركبات النيتروجين بين البللورات أو أن معادن الطين تقوم بادمصاص مركبات النيتروجين العضوية أو يحدث ادمصاص للإنزيمات المحللة للبروتين بواسطة معادن الطين مما يقلل من نشاط الإنزيمات في التربة.

وتستخدم الأحماض الأمينية الناتجة عن نشاط إنزيمات البروتييز كمصادر للكربون والنيتروجين بواسطة أعداد لا حصر لها من الميكروبات الغير ذاتية التغذية والتي تتمكن كل مجموعة منها من استخدام العديد من هذه المركبات، وينطلق نيتروجين الأحماض الأمينية علي صورة أمونيا التي يستخدمها الميكروب كمصدر للنيتروجين، ويتم تحلل الأحماض الأمينية إما بنزع مجموعة الأمين Deamination أو نزع مجموعة الكربوكسيل Decaroboxylation .

أولاً: نزع مجموعة الأمين Deamination

(أ) النزع المباشر وتكوين حمض عضوى غير مشبع

Desaturation

$$R-CH_2-\underset{\displaystyle |}{\overset{NH_2}{CH}}-COOH \longrightarrow R-CH=CH-COOH + NH_3$$

Amino acid — Unsaturated acid

(ب) نزع الأمونيا بالأكسدة Oxidative deamination

$$R-\underset{}{\overset{NH_2}{\overset{|}{CH}}}-COOH + \tfrac{1}{2}O_2 \longrightarrow R-CO-COOH + NH_3$$

α-keto acid

(جـ) نزع الأمونيا بالاختزال Reductive deamination

$$R-\underset{|}{\overset{NH_2}{C}}H - COOH + 2H \longrightarrow R-CH_2-COOH + NH_3$$

Aliphatic acid

(د) نزع الأمونيا بالتحلل المائى Hydrolytic deamination

$$R-\underset{|}{\overset{NH_2}{C}}H - COOH + H_2O \longrightarrow R-CHOH-COOH + NH_3$$

α – hydroxy acid

(هـ) باستخدام حمضيين أمينيين (تفاعل استكلاند)

Stickland reaction

$$R-\overset{NH_2}{\overset{|}{C}}H - COOH + R-\overset{NH_2}{\overset{|}{C}}H- COOH + H_2O \longrightarrow R-CO-COOH + R-CH_2-COOH + 2NH_3$$

حيث يقوم الميكروب باستخدام حمضين أمينيين في نفس الوقت أحدهما يتأكسد والأخر يختزل.

(و) التحلل المائي مع نزع مجموعتى الأمين والكربوكسيل ويتكون كحول

Hydrolytic deamination & decarboxylation

$$R-\overset{NH_2}{\overset{|}{C}}H - COOH + H_2O \longrightarrow R-CH_2OH + CO_2 + NH_3$$

Alcohol

ثانياً: نزع مجموعة الكربوكسيل Decarboxylation

$$R-\underset{|}{\overset{NH_2}{CH}} - COOH \longrightarrow R-CH_2-NH_2+CO_2$$

ويعقبها نزع مجموعة الأمين.

ويتم معدنة الأحماض الأمينية الناتجة عن تحلل المواد البروتينية بمعدلات مختلفة، وتتميز بعض الأحماض الأمينية بمقاومتها للتحلل بينما نجد البعض الأخر قابلا للتحلل بدرجة واضحة، وتتكون الأمونيا بسهولة عند تحلل بعض الأحماض الأمينية في حين نجد أن البعض الأخر يتميز ببقائه كما هو في التربة لفترات طويلة، وبعد نزع الأمونيا نجد أن الجزء المتبقى من الحمض الأميني يهاجم بسهولة بواسطة الميكروبات الهوائية واللاهوائية منتجة CO_2 وأحماض عضوية مختلفة.

العوامل المؤثرة علي نشدرة النيتروجين العضوي

Factors effecting ammonification

نظرا لأن الأنواع الميكروبية القادرة علي معدنة النيتروجين عديدة فمنها الهوائية واللاهوائية والمتجرثمة وغير المتجرثمة والميزوفيلية والثرموفيلية، لذلك فأن الميكروبات القادرة علي معدنة النيتروجين العضوي تكون نشطة بصرف النظر عن الاختلاف في الظروف البيئية.

ولقد وجد أن معدل معدنة النيتروجين العضوي يرتبط بمحتوي التربة من النيتروجين الكلي فكلما زادت النسبة زاد معدل النشدرة.

ومن العوامل المؤثرة أيضاً حالة الصرف، فالأراضي سيئة الصرف ينخفض فيها معدل النشاط البيولوجي وهذا ينعكس علي عملية النشدرة.

كما تؤثر رطوبة التربة علي معدل المعدنة، فقد وجد أن معدل النشدرة يتم ببطء علي درجة رطوبة قريبة من نقطة الذبول Wilting point وأنه بزيادة الرطوبة عن ذلك يزداد معدل النشدرة بالتدريج، الرطوبة المثلي لعملية النشدرة حوالي ٥٠-٧٥٪ من(Water holding capacity (WHC وهى تمثل السعة الحقلية

وفي الأراضي الغدقة فان العملية لا تتوقف بل تكون سريعة لحد ما، وعند غمر التربة فإن الأمونيا تتزايد إلي حد معين ثم تتوقف عند هذا الحد، وذلك لأن الأمونيا المتكونة تتراكم ولا يحدث لها أكسدة ومن المعروف أن تراكم الأمونيا يضر بنمو الميكروبات.

ومن ناحية أخري فلقد لوحظ في المناطق الجافة ونصف الجافة أن الجفاف وإعادة الترطيب يؤدي إلي زيادة واضحة في كمية الأمونيا في التربة بعد إضافة الماء إليها مباشرة، ولقد فسر ارتفاع نسبة الأمونيا في التربة نتيجة التجفيف والترطيب إلي

أن تكرار التجفيف والترطيب يؤدي إلي حدوث تغييرات في المواد العضوية تجعلها أكثر قابلية للتحلل، كما أن التجفيف يؤدي إلي موت عديد من الميكروبات، وعند إعادة الترطيب فأن هذه الميكروبات تتحلل سريعاً مما يزيد من مستوي النيتروجين المعدني في التربة.

ويؤثر pH التربة علي معدل النشدرة، فلقد لوحظ أنه لو تساوت كل الظروف فأن معدل المعدنة يكون أسرع في الأراضي المتعادلة عن الحمضية، والحموضة تقلل العملية ولكن لا توقفها، ولذلك فان إضافة الجير للتربة الحمضية يزيد من العملية وأيضاً يؤدى إلى إصلاح التربة القلوية تزيد من العملية.

والحرارة أيضاً عامل هام فعند درجة ٢°م تكون النشدرة بطيئة جدا، أما التربة المتجمدة فأنه لم يلاحظ فيها أي زيادة في نسبة الأمونيا أو النترات ولكن ارتفاع درجة الحرارة فان معدل المعدنة يزداد، ودرجة الحرارة المثلي للعملية تختلف عن درجة الحرارة المثلي لأغلب العمليات الحيوية في التربة حيث أن الدرجة المثلي لا تعتبر في النطاق الميزوفيلي، بل تكون في حدود من ٤٠-٦٠°م ، حيث لوحظ تراكم الأمونيا في أكوام السماد البلدي والعضوي الصناعي التي تصل درجة حرارتها إلي ٦٥°م ويوضح ذلك دور الميكروبات الثرموفيلية في عملية المعدنة.

ومن العوامل المؤثرة أيضاً علي سرعة تحلل المواد البروتينية بالتربة معادن الطين المكونة لها ، فمن المعروف أن لمعادن الطين القدرة علي ادمصاص البروتينات والإنزيمات وهذا يقلل من النشاط الحيوي للميكروبات ، كما أن معادن الطين تختلف فيما بينها في هذه الخاصية، حيث وجد أن لمعدن

Montmorillonite قدرة أكبر في الادمصاص عن معدن الـ Illite وهذا قدرته أعلي من معدن الـ Kaolinite .

وبالإضافة إلي ما سبق فان نسبة الكربون إلي النيتروجين C/N ratio في المادة العضوية المتحللة تعتبر من أهم العوامل المؤثرة علي معدل معدنة النيتروجين العضوي ، فمن المعروف أنه أثناء تحلل المادة العضوية النيتروجينية فأن الميكروبات تمثل جزءاً من النيتروجين الموجود فيها لبناء أجسامها والباقي يخرج في التربة في صورة أمونيا ، وعلي ذلك فإذا كانت نسبة الكربون إلى النيتروجين متسعة أي أن نسبة النيتروجين منخفضة بالنسبة للكربون فإن الميكروبات تمثل كل النيتروجين الموجود في المادة العضوية في أجسامها بل وقد تلجأ إلي النيتروجين المعدني الموجود أصلا في التربة وتمثله ، مما يحدث نقص مؤقتا في النيتروجين الصالح للنبات ، وعلي العكس إذا كانت النسبة ضيقة فان عملية المعدنة هي التي تحدث.

التمثيل الغذائى للأحماض النووية Metabolism of nucleic acids

تلى الأحماض النووية البروتينات في أهميتها كمواد نيتروجينية تستخدمها الميكروبات في تغذيتها، وتوجد هذه المواد الغنية في النيتروجين في الأنسجة النباتية والحيوانية وبروتوبلازم الخلايا، لهذا فإن مصير هذه الأحماض النووية يؤثر بدرجة واضحة علي تتابع خطوات عملية المعدنة في التربة، وتحتوى أنسجة الكائنات الحية عموماً علي نوعين من الأحماض النووية هما حمض الريبونيوكليك RNA وحمض دى أوكسى الريبونيوكليك DNA، ويتكون كل حمض من نيوكليوتيدات عديدة التي تتكون من بلمرة وحدات تركيبية تعرف بالنيوكليوتيدات الأحادية، وتتكون الأخيرة من قاعدة أزوتية قد تكون مرتبطة مع بيورين أو بيريميدين وسكر وفوسفات، ويدخل سكر الريبوز في تركيب حمض RNA بينما يدخل سكر الدي أوكسى ريبوز في تركيب حمض DNA، وتوجد قواعد البيورين في جزيئات كل من DNA, RNA أما بالنسبة لقواعد البيريميدين فتوجد قاعدة السيتوزين في حمض DNA, RNA واليوراسيل في الحمض النووي الأول والثيامين في الحمض النووي الثاني.

ويتم خلال تحلل الأحماض النووية تحولها أولا إلي أجزاء صغيرة والتي بدورها تتحول إلي نيوكليوتيدات وحيدة، ويساعد علي ذلك إنزيمي الريبونيوكليز والدى أوكسي ريبونيوكليز التي تنشط وتحلل حمض RNA , DNA علي التوالى أو إنزيمات أخرى تقوم بالتحليل المائى لكلا الحمضين النوويين والتي يطلق عليها Nucleases. وتتكون إنزيمات الريبونيوكليز الخارجية بواسطة أنواع جنس *Mycobacterium, Pseudomonas, Bacillus* من البكتريا وأنواع جنس *Aspergillus, Rhizopus, Penicillium, Mucor, Fusarium* من الفطريات. في حين تقوم أنواع الأجناس التالية بإفراز إنزيمات الدى أوكسى ريبونيوكليز *Arthrobacter, Pseudomonas, Clostridium, Bacillus* من البكتريا و *Cladosprium, Fusarium* من الفطريات هذا بالإضافة إلى أن العديد من الأجناس البكتيرية الأخرى يمكنها إفراز هذه الإنزيمات.

وكغيرها من الإنزيمات المحللة مائيا للبوليمرات نجد أن الإنزيمات المحللة للأحماض النووية مائياً قد تكون من النوع الذي ينشط علي العديد من المناطق الداخلية للجزئ أو من النوع الذي يعمل علي نهايات الجزئ، وقد يوجد القليل من هذه الإنزيمات التي تعمل علي تكسير الأحماض النووية وذلك بالنشاط علي كل من مناطق الجزئ الداخلية والخارجية معاً، وعلي العكس مما يحدث عند تحلل السكريات العديدة مثل السليولوز فإن الوحدات الناتجة عند تحلل الأحماض النووية وهي النيوكليوتيدات الوحيدة لا تتماثل مع بعضها في التركيب الكيميائى، حيث قد يحتوى كل منها علي إحدى قواعد البيورين والبيرميدين وعلي الريبوز أو الدى أوكسى ريبوز بالإضافة إلي الفوسفات. وتتشابه النيوكليوتيدات الأحادية مع بعضها في التحلل النهائى وذلك علي الرغم من اختلاف القاعدة النيتروجينية المحتوية عليها حيث تحلل الميكروبات جزيئاتها جميعا للحصول علي الطاقة والكربون والنيتروجين اللازم لنموها، وبعد تكون النيوكليوتيدات الأحادية نجد أن استمرار التحلل يؤدي إلي التخلص من مجموعة الفوسفات حيث يتكون النيوكليوسيدات ثم ينفصل سكر الريبوز وتتكون القواعد الأزوتية وبعد ذلك تتحلل القواعد الأزوتية ويتكون منها حمض الجليوكسليك ثم اليوريا والمعادلات التالية توضح ذلك:

$(N-base-sugar-P)_n \rightarrow N-base-sugar-P \longrightarrow N-base-sugar + P$

Nucleic acid Mononucleotide Mononuleoside

$N-base-sugar \longrightarrow Sugar + N-base$ (purine or pyrimidine)

N-base (purine or pyrimidine) $\longrightarrow CHO-COOH+NH_2-CO-NH_2$

Glyoxilic acid Urea

ويتصاعد CO_2 نتيجة التمثيل الغذائى لسكر الريبوز ، ويتوقف إنتاج الأحماض العضوية علي مدي توفر الأكسجين وغالباً ما تتحلل القواعد النيتروجينية وينفرد منها النيتروجين.

تحلل اليوريا Urea decomposition

تمثل اليوريا إحدى نواتج تحلل القواعد النيتروجينية المكونة للأحماض النووية، كما تعتبر اليوريا من الأسمدة الكيميائية الهامة، وقد تصل أيضاً اليوريا للتربة عن طريق إفرازات الحيوانات الراقية، وتعتبر اليوريا أحد المركبات الهامة في دورة النيتروجين حيث إنها تمثل أحد النواتج الوسطية لعمليات التمثيل الغذائى للميكروبات، وأحد نواتج الإخراج الحيواني، وكونها أحد الأسمدة النيتروجينية الكيميائية الشائعة الاستعمال، ومن المعروف أن اليوريا تتميز عن بقية الأسمدة النيتروجينية بارتفاع محتواها من النيتروجين (٤٦٪) لذلك فهي تنتج بكثرة في مصر في مصانع أبى قير وطلخا حيث يستخدم الغاز الطبيعي في إدارة هذه المصانع.

وتتحلل اليوريا المضافة للتربة بسهولة مائياً حيث يتحول الجزء الأكبر من نيتروجين اليوريا إلى أمونيا في خلال أيام وحيث ترتفع درجة pH الأراضى المضاف لها اليوريا إلي ما يقرب من pH 8.0 وأحياناً pH 9.0 خاصة في المناطق القريبة من جزيئات اليوريا المضافة وذلك علي الرغم من أن درجة pH علي مسافات صغيرة من المكان تقترب من التعادل أو أقل، وتحت مثل هذه الظروف القلوية نجد أن المنتج النهائى لتحلل اليوريا عبارة عن غاز الأمونيا وليس أملاح الأمونيوم حيث يفقد جزء كبير من نيتروجين اليوريا المضاف كسماد إلي الجو في صورة غاز الأمونيا.

ونظراً لأن المرحلة الأولى لتحلل اليوريا تتمثل في فقد عنصر النيتروجين المضاف علي صورة سماد فإن اهتماماً بالغاً قد وجه لدراسة العوامل التي تؤثر علي مثل هذا الفقد، وقد تبين أن الفقد بالتطاير قد يتراوح من ١٠ إلي ٧٠ في المائة من نيتروجين اليوريا المضاف، وتشجع الحرارة المرتفعة الفقد الناتج هذا بالإضافة إلي أن الفقد يزداد في حالة إضافة اليوريا للطبقات السطحية عن إضافتها لطبقات التربة العميقة ، وفي حالة الأراضى المرتفعة عن الأراضى المنخفضة في درجة الـ pH.

وينشط تحلل اليوريا بارتفاع درجات الحرارة ولو أن هذه العملية قد تحدث أيضاً عند درجة حرارة منخفضة، كما تعتبر الرطوبة وتوفر الأكسجين والـ pH من العوامل البيئية المؤثرة علي معدل حدوث هذه العملية.

وتتمكن العديد من الميكروبات من إفراز إنزيم اليورييز الذي يساعد علي تحلل اليوريا مائياً ويعتبر هذا الإنزيم دائم الوجود في بعض الأنواع في حين أنه يستحث في بعض الأنواع الأخرى في وجود اليوريا ويعتبر كرباميت الأمونيوم الناتج الوسطي لتحلل اليوريا.

$$NH_2{-}CO{-}NH_2 + H_2O \xrightarrow{\text{urease}} H_2N{-}COO{-}NH_4 \longrightarrow 2NH_3 + CO_2$$

Urea **Ammonium carbamate**

وتختلف أعداد الميكروبات النشطة في تحلل اليوريا من عدة ألاف في الأراضى العضوية من أصل نباتي الحمضية إلي أكثر من مليون في الجرام في أكثر المناطق ملائمة لنشاط هذه الميكروبات، وتعمل البكتريا، الفطريات والأكتينوبكتريا علي تخليق إنزيم اليورييز مما يمكنها من استخدام اليوريا كمصدر للنيتروجين ومن أكثر الأجناس الميكروبية التي درست قدرتها التحليلية لليوريا هي بكتريا ***Klebsiella, Pseudomonas, Micrococcus, Bacillus, Clostridium and Corynebacterium*** ومجموعة عديدة من الفطريات والأكتينوبكتريا.

ويوجد مجموعة صغيرة من البكتريا الحقيقية تعرف ببكتريا تحلل اليوريا ليس لأنها أكثر الميكروبات المحللة لليوريا انتشاراً ولكن لمقاومتها للتركيزات العالية من

اليوريا وتفضيلها للنمو في وجود مثل هذا المركب، وهذه البكتريا بعضها كروى والأخر عصوي متجرثم، وتتمكن كلتا المجموعتين من النمو في أوساط قلوية وإنتاج كميات كبيرة من الأمونيا، وتتبع البكتريا العصوية المتجرثمة جنس *Bacillus* وخير ما يمثلها النوعان *Bacillus pasteurii, Bacillus freudenreichii* ويمكن تقدير أعداد هذه البكتريا المتجرثمة والمحللة لليوريا في التربة بمقارنة الأعداد الناتجة من استخدام تخفيفات من التربة المبسترة علي ٨٠ °م وغيرها من التخفيفات غير المبسترة ، أيضاً يوجد ميكروبات كروية قادرة علي تحليل اليوريا وهي :
Micrococcus urea and Sporosarcina urea.

عملية التـأزت Nitrification

تنتهي التفاعلات الخاصة بمعدنة نيتروجين التربة العضوى بتكوين الأمونيوم التي تعتبر أكثر صور عنصر النيتروجين المعدنية اختزالا، والتي تستخدم كنقطة انطلاق لحدوث العملية التي تعرف بعملية التأزت التي تؤدي إلي تكون النيتريت أو النترات، وتنحصر أهمية ميكروبات التأزت في مقدرتها علي تكوين النترات التي تعتبر أهم صور النيتروجين امتصاصاً وتمثيلاً بواسطة النبات، ولا تنتج النترات فقط في التربة ولكنها تتكون أيضاً في الأوساط البيئية البحرية، وأكوام السماد العضوي، وأثناء عمليات المعالجة لمياه المجارى حيث تعتبر النترات المنتج النهائى لأخر مراحل التخلص من خطورة مركبات النيتروجين العضوي.

ويمكن تمييز خطوتين منفصلتين تماما أثناء حدوث عملية التأزت، الخطوة الأولى تتمثل في أكسدة أولية للأمونيا إلي نيتريت ثم يتلوها تحول المركب الأخير إلي نترات، ولقد أمكن عزل مجموعتين مختلفتين من الميكروبات تقوم كل منها بدور مستقل في عملية التأزت، وتوجد الميكروبات المكونة للنترات بصفة عامة في الأوساط البيئية التي تتواجد بها الميكروبات الأخرى المتخصصة في أكسدة الأمونيا وذلك لندرة وجود النيتريت في الطبيعة حتى في الأوساط البيئية التي تشجع حدوث عملية التأزت بمعدلات سريعة.

بكتريا التأزت Nitrifying bacteria

من أجناس بكتريا التأزت التي تم التعرف عليها في التربة :

١. بكتريا تؤكسد الأمونيا إلي نيتريت مثل:

Nitrosomonas , Nitrosospira, Nitrosococcus.

٢. بكتريا تؤكسد النيتريت إلي نترات مثل:

Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrospira .

ويعتبر ***Nitrobacter, Nitrosomonas*** من أكثر هذه الأجناس انتشاراً ، ولاشك أنها تعد من أهم ميكروبات التأزت الذاتية التغذية الكيميائية ومن أنواع هذه الميكروبات ***Nitrosomonas europaea*** و ***Nitrobacter winogradskyi***

وتتميز بكتريا التأزت الذاتية التغذية باعتمادها الكلى علي المواد غير العضوية في الحصول علي الطاقة حيث أنها لا تتمكن من استخدام مركبات الكربون العضوية لهذا الغرض ، بالإضافة إلي عدم مقدرتها علي الحصول علي الطاقة اللازمة من أكسدة أى مواد غير عضوية لا تحتوي علي النيتروجين ، وتأخذ هذه الميكروبات الكربون اللازم لبناء خلاياها من CO_2 أساساً والكربونات أو البيكربونات في حين تحصل علي الطاقة اللازمة لاختزال CO_2 من أكسدة المواد غير العضوية النيتروجينية، وتتمثل الخطوة الأولى في عملية التأزت بواسطة البكتريا الذاتية التغذية الكيميائية والذي تقوم به بكتريا ***Nitrosomonas*** في التفاعل التالي:

$$2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + \text{Energy}$$

Nitrous acid

ثم تقوم بكتريا ***Nitrobacter*** بأكسدة النيتريت إلى نترات كما في التفاعل التالى:

$$2HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2HNO_3 + \text{Energy}$$

Nitrous acid Nitric acid

لا تقوم الميكروبات بالحصول علي كل الطاقة المتاحة نتيجة لعمليات الأكسدة ولكنها تستخدم جزءاً قليلا منها ويتحدد مدي كفاءة هذه الميكروبات في استخدام الطاقة علي النسبة المستخدمة، حيث تبلغ كفاءة ميكروبات

Nitrosomonas في استخدام الطاقة المنطلقة حوالى ٥-١٤ ٪ ، بينما كفاءة ميكروبات *Nitrobacter* حوالى ٥- ١٠٪ ، وتزداد كفاءة الميكروبات في استخدام الطاقة في المزارع الحديثة العمر التي تمر بطور النمو اللوغاريتمي عنه في حالة المزارع القديمة، وتشير انخفاض نسبة C:N للميكروبات المؤكسدة للأمونيا عن الأخرى المؤكسدة للنيتريت إلي كفاءة الأولى في الحصول علي الطاقة الناتجة من عمليات الأكسدة حيث تقل الكمية المؤكسدة من مركبات النيتروجين اللازمة لتكون الخلية الواحدة.

ويتواجد كلاً من *Nitrosomonas, Nitrobacter* معاً في معظم الأوساط الطبيعية حيث لا يسمح ذلك بتراكم النيتريت بتركيزات قد تكون سامة للنباتات، وقد ترتفع أعداد هذه الميكروبات بدرجة كبيرة حيث تصل إلي $١٠^{٧}$ في الجرام نتيجة لإضافة أملاح الأمونيوم، وفي المناطق الباردة تزداد أعداد هذه الميكروبات خلال فصل الربيع الدافئ بينما تنخفض بدرجة ملحوظة خلال شهور الصيف الحارة الجافة وأثناء شهور الشتاء الباردة، حيث يعمل كل من الجفاف والتجمد علي خفض أعداد هذه الميكروبات.

وفي أغلب الظروف لا يتراكم النيتريت في التربة في حين تعتبر النترات أكثر الأنيونات المحتوية علي النيتروجين انتشاراً، ويؤثر وجود النيتريت وبقاؤه في التربة علي الإنتاج الزراعي وذلك نظراً لسميته للنباتات والميكروبات. ومن ناحية أخرى قد يتراكم النيتريت في ظل ظروف بيئية معينة كما في حالة الأراضى القلوية حيث تتوقف عملية تكوين النترات من $(NH_4)_2SO_4$ كنتيجة لإضافة مثل هذا المركب بمعدلات كبيرة، ولا يعد ذلك تثبيطاً لعملية أكسدة الأمونيا بقدر ما هو توقف لأكسدة النيتريت المتكون إلي نترات حيث يبقى المركب الأول طالما تواجدت الأمونيا بتركيزات مرتفعة.

ولقد أثبتت المشاهدات الحقلية أن تراكم النيتريت يعزي لعاملين هما القلوية وتواجد الأمونيا بتركيزات مرتفعة، ويتناسب تراكم النيتريت طرديا في الأراضى الجيرية مع معدل إضافة الأمونيا، وفي حالة الاستخدام الدائم للأسمدة الكيميائية يزداد التأثير بانخفاض درجة تركيز أيون الأيدروجين، فيؤدي استخدام الأمونيا اللامائية الشائعة

الاستعمال كسماد إلي ارتفاع الأس الأيدروجيني والذى يصل أحياناً إلي ٩-٩,٥، ويؤدي توفر كل من الأمونيا كمصدر للنيتروجين وارتفاع الأس الأيدروجيني إلي تراكم النيتريت كما أن تحلل المركبات النيتروجينية أو اليوريا وانطلاق الأمونيا قد يؤدي إلي تكون النيتريت مرحلياً نتيجة لتثبيط عملية تكون النترات، وبانخفاض درجة ال pH أو تركيز الأمونيا نتيجة استمرار عملية التأزت يتلاشى التأثير المثبط ويبدأ إنتاج النترات لذلك فإن السمية الناتجة عن النيتريت والتي تنشأ من وقت لأخر قد تكون لها أهمية من الناحية العملية.

التأزت بواسطة الكائنات غير الذاتية التغذية (الهيتيروتروفية)

تستطيع أعداد كثيرة من الميكروبات غير الذاتية التغذية والأكتينوميسيتات من تكوين أثار من النيتريت في البيئات المعملية المحتوية علي أملاح الأمونيوم، وكقاعدة عامة لا يتكون النيتريت إلا عقب فترة من النمو النشط لهذه الميكروبات وفي البيئات المعملية المحتوية علي الأمونيا بكميات تفوق احتياجات الميكروبات الخاصة بعمليات التمثيل أى عندما تكون نسبة C:N منخفضة ولا تكون هذه الميكروبات النترات ، كما أن الأثار من مركبات النيتروجين غير العضوية التي يتم أكسدتها قليلة بدرجة كبيرة مقارنة مع أكسدة ٢٠٠٠ جزء في المليون أو أكثر بواسطة بكتريا ***Nitrosomonas*** ، ويمكن للعديد من الفطريات أكسدة النيتريت مما يشير إلي إمكانية تواجد كل من مجموعتي الكائنات غير الذاتية التغذية والتي تعمل سويا علي تحويل الأمونيا في النهاية إلي نترات، ومن ناحية أخرى قد تتمكن بعض أنواع البكتريا مثل سلالات ***Arthrobacter*** وبعض الفطريات مثل ***Aspergillus flavus*** من إنتاج النترات في البيئات المعملية المحتوية علي الأمونيا كمصدر وحيد للنيتروجين.

وعموماً لا تستفيد الكائنات غير الذاتية التغذية أثناء نموها من الطاقة الناتجة خلال عمليات الأكسدة هذه حيث وجد أن نواتج المركبات الأكثر أكسدة لا تظهر إلا عقب توقف النمو النشط لهذه الميكروبات.

العوامل التى تؤثر علي عملية التأزت

تؤثر كل من العوامل الطبيعية والكيميائية علي معدل حدوث عملية أكسدة الأمونيا، ومما يؤكد هذه الحقيقة اختلاف معدل حدوث هذه العملية في الأراضى المعقمة المضاف إليها نفس الكميات من اللقاح باختلاف نوع التربة، ويعزى حساسية هذه التحولات الواضحة للتأثيرات الخارجية إلي درجة التشابه الكبير بين أنواع الميكروبات المسئولة من الناحية الفسيولوجية ، لهذا نجد أن أى تعديل في الظروف البيئية المحيطة يتحكم لدرجة كبيرة في المنتج النهائى لهذه العملية، فعلي سبيل المثال نجد أن الحموضة الشديدة أو الظروف اللاهوائية تؤدي إلي عدم تكون النترات، بينما يستمر تراكم الأمونيا نظراً لأن علمية النشدرة أقل حساسية للتغيرات البيئية.

وتعتبر الحموضة من أهم العوامل البيئية المؤثرة حيث أظهرت العديد من الدراسات وجود ارتباط بين رقم الأس الهيدروجيني وعملية تكوين النترات، وتحدث عملية التأزت بمعدلات بطيئة في الأوساط الحمضية وذلك علي الرغم من توفر مادة التفاعل اللازمة لنشاطها، كما أن الميكروبات المسئولة تختفي في الأوساط الحمضية الشديدة أو توجد بأعداد ضئيلة.

ومن الصعوبة تحديد نطاق الأس الهيدروجيني الذي تحدث خلاله هذه العملية حيث يتوقف ذلك علي بعض العوامل الفسيولوجية والكيميائية السائدة في التربة. وعموماً فإن هذه العملية تقل معدلات حدوثها بدرجة واضحة عند انخفاض درجة تركيز أيون الأيدروجين عن 6.0 وتصبح منعدمة تقريبا عند pH أقل من 5.0 ، ومع ذلك فقد تتواجد النترات أحياناً في أراضى ذات رقم أس أيدروجيني 4.0 أو اقل، ولقد وجد أن بعض الأراضى تحدث فيها عملية التأزت عند أس أيدروجيني 4.5 بينما لا تحدث في أراضى أخرى ذات درجة حموضة مماثلة، ولقد عزى ذلك إلي توفر سلالات متأقلمة للحموضة في الأولى والاختلافات الكيماوية بين الوسطين.

كما يعتبر الأكسجين من الاحتياجات الإجبارية لنشاط ميكروبات التأزت جميعها، حيث تعتبر هذه الميكروبات هوائية حتما ويلزم تهوية كافية لنموها، ويؤدي نقص الأكسجين إلي الحد من أكسدة الأمونيا في حين تتوقف هذه العملية تماماً في

غياب الأكسجين، لذلك نجد أن لبناء التربة تأثيرًا واضحاً علي تراكم النترات لما له من علاقة بتهوية التربة.

وتؤثر الرطوبة من خلال علاقتها بتهوية التربة علي إنتاج النترات، فمن ناحية نجد أن الغمر يحد من عملية انتشار الأكسجين وبالتالى تثبيط عملية التأزت ، ومن الناحية الأخرى نجد أن الجفاف لا يعيق النشاط البكتيري نتيجة تأثيره علي الاحتياجات الغازية ولكن نتيجة النقص في الرطوبة لذا يعمل الرى علي ارتفاع كل من أعداد ميكروبات التأزت وكميات النترات المتكونة في الأراضى الجافة، وتختلف درجة الرطوبة المثلي باختلاف أنواع الأراضى ولكن يلاحظ حدوث عملية التأزت بدرجة واضحة عند مستوي رطوبة يعادل نصف السعة التشبعية العظمي للتربة.

وتتأثر عملية التأزت بدرجة الحرارة تأثرا واضحاً، حيث تحدث هذه العملية ببطء عند درجات حرارة أقل من٥ ° م وأعلي من ٤٠ ° م ولو أن هناك بعض الأدلة التي تشير إلي حدوث هذه العملية ولو بدرجة بطيئة عند درجات حرارة مقاربة لدرجة التجميد، وتزداد معدلات تمثيل النترات بارتفاع درجة الحرارة حيث تصل أقصاها عند درجة الحرارة المثلي والتي تقع غالباً بين٣٠- ٣٥ °م ولو أن هذا النطاق الحرارى الأمثل يختلف باختلاف نوع الميكروب السائد.

وقد يعزى لعملية التأزت حدوث بعض التأثيرات الضارة ، فبالرغم من أن أنيون النترات يسهل استخدامه بواسطة النباتات فإنه يعتبر أيضاً أكثر عرضة للذوبان والغسيل في ماء التربة عن الأمونيوم، مما يؤدي إلي ابتعاد مثل هذا المركب المغذى عن منطقة نمو جذور النباتات، ويؤدي ذلك إلي فقد كبير في أحد العناصر الأساسية والضرورية في إنتاج الغذاء، بل وإلي وجود المزيد من النترات في المياه مما يؤدي إلي تلوثها بهذا المركب الضار بصحة الأطفال وحيوانات المزرعة، كما قد يتسبب من ناحية أخرى في تشجيع نمو النباتات المائية في المسطحات المائية القريبة، كما أن النيتروجين النتراتي يكون عرضة للفقد علي صورة مركبات غازية تصبح غير ميسرة للمحاصيل، لكل هذه الأسباب مجتمعة تتجه العديد من الدراسات إلي البحث عن بعض المواد الكيميائية التي يمكن إضافتها مع أسمدة النشادر واليوريا للتربة لكى تثبط من معدل حدوث عملية التأزت، وبالطبع فإن المركب

المختار يجب أن يكون غير سام للنباتات ولا يتسبب أيضاً في حدوث أية أضرار بيئية أخرى، ومن أهم المواد المستخدمة لهذا الغرض: Sodium azide, Chlorinated pyridines and Pyrimidines, Cyanoguanidine, Nitrobenezenes, N-alkylmaleimides, Thiadiazoles, S-triazines, Triazoles, and Trichloroacetamides ومن أهم المواد التي تبشر بنتائج جيدة من الناحية التطبيقية مادة Nitrapyrin/N-serve (2-chloro-6-trichloro methyl)[pyridine] حيث تعمل التركيزات المنخفضة من هذه المواد علي تثبيط أكسدة كل من الأمونيا والنيتريت (عملية التأزت) بواسطة الكائنات الذاتية التغذية في حين ينعدم تأثيرها علي قيام الميكروبات غير الذاتية التغذية بهذه العملية.

ويؤدي تثبيط عملية التأزت في النهاية إلي تقليل الفقد بعمليتي الغسيل وعكس التأزت مما يتيح كميات أكبر من السماد النيتروجيني المضاف لاستخدام النباتات وبالتالي العمل علي ارتفاع إنتاجية المحاصيل مع استخدام كميات أقل من الأسمدة الكيميائية.

التلوث بالنترات Nitrate pollution

علي الرغم من أهمية النترات كأيون ضرورى لتغذية النبات إلا أنها تعد أيضاً من أهم المواد الملوثة للبيئة، فقد حكم علي النترات بأن تركيزها الزائد غير مرغوب فيه للدور الفعال الذي تلعبه فيما يلى :

(أ) ظاهرة Eutrophication أى انتعاش نمو الطحالب والنباتات في المسطحات المائية كنتيجة لزيادة المحتوي الغذائى للمياه.

(ب)إصابة الأطفال بمرض Methemoglobinemia والذي عادة ما يرتبط باستهلاك المياه والخضروات الغنية في النترات (التسمم بالنترات).

(جـ) إصابة الحيوانات بمرض Methemoglobinemia .

(د) تكون مركبات النيتروز أمين Nitrosamine .

أولاً: ظاهرة Eutrophication

تدعم البحيرات والأنهار نمو بعض أنواع الطحالب والنباتات الجذرية ولكن الكتلة الحية لهذه الكائنات غالباً ما تكون محدودة نظرا للافتقار إلي العناصر الغذائية غير العضوية ولكن عند إضافة المزيد من هذه العناصر الغذائية تزدهر هذه الطحالب والنباتات بدرجة تنشأ معها بعض الأوضاع غير المرغوب فيها والتي تعرف بظاهرة Eutrophication أى زيادة المحتوي الغذائى للمياه وعلي الرغم من أن نقص الفوسفور في البحيرات يعد من أهم العوامل المحددة لنمو الكائنات التي تقوم بعملية التمثيل الضوئى إلا أن النيتروجين قد يلعب أيضاً دورًا مميزا في هذا الخصوص، لهذا فإن وصول النترات من الأراضى المجاورة عن طريق الماء الأرضى قد يشجع ازدهار نمو الطحالب والنباتات، وتحدث هذه الظاهرة طبيعياً نتيجة لانتقال العناصر الغذائية من الحقول إلي المسطحات المائية المجاورة ولكن استخدام مركبات النيتروجين غير العضوية والعضوية في الزراعة وكذلك انطلاق النيتروجين عند استزراع الأراضى البكر يؤدي بلا شك إلي تزويد هذه المسطحات المائية بهذا العنصر المحدد لنمو الكائنات التي تقوم بعملية التمثيل الضوئى، ووجود النترات بتركيزات منخفضة للغاية تصل أحيانا إلي ٠.٣ جزء في المليون يكفي لنمو بعض الطحالب غير المرغوب فيها وذلك بشرط توفر بقية العناصر الغذائية الأخرى. ويعتبر النمو المتزايد للطحالب والنباتات في المسطحات المائية غير مرغوب فيه للأسباب التالية:

١- الحد من استخدام هذه المسطحات في أغراض الاستحمام.

٢- ارتفاع تكاليف تنقية مياه الشرب.

٣- موت الأسماك نتيجة لاستهلاك الأكسجين أثناء تحلل الطحالب الميتة.

٤- اكتساب مياه الشرب لمذاق وروائح غير مرغوب فيها.

٥- إعاقة الملاحة بواسطة القوارب الصغيرة نتيجة النمو الغزير للنباتات.

وفي بعض الأحيان يكون دور الأراضى في زيادة محتوى المسطحات المائية المجاورة من النترات قليل نظراً لعدم التوسع في عمليات الزراعة، إضافة المركبات النيتروجينية بكميات قليلة، أو وجود النيتروجين في صور أخرى، ولكن في أحيان أخرى تلعب الزراعة دورا هاماً في هذا الخصوص، ويعتبر التخلص من النواتج

النهائية الصلبة أو السائلة لمعاملة مياه المجارى في المدن أو مخلفات المزارع الحيوانية الكبيرة علي مسطحات كبيرة من الأراضى مفيداً حيث يساعد علي تزويد النباتات بالعناصر الغذائية الأساسية، وعلي تكوين دبال التربة بمعدلات كبيرة نسبياً، وعلي تخلص محطات معاملة المخلفات والمزارع الحيوانية من الكم الأكبر من هذه المخلفات، وعلي الرغم من ذلك فهناك بعض المخاطر التي تلازم مثل هذا الإجراء المفيد والذي يعتبر إحداها تراكم النترات بتركيزات غير مرغوب فيها، لهذا نجد أن الإقلال من معدلات إضافة هذه المخلفات الصلبة تؤدي إلي نقص النترات المتكونة للتحولات الميكروبية لدرجة يصل معها التلوث بواسطة الماء الأرضى لأقل مستوي ممكن يسهل التغلب عليه.

ثانياً: **Methemoglobinemia**

يرجع اهتمام الصحة العامة بالنترات وبالتالى بعملية التأزت إلي المرض المعروف باسم **Methemoglobinemia** والذي ينتج عن استهلاك النترات الموجودة في الماء والطعام حيث تختزل إلي نيتريت في القناة الهضمية، وبوصول المركب الأخير للدم يتفاعل مع الهيموجلوبين مكونا مركب **Methemoglobin** والذي يؤدي بدوره إلي العجز الواضح في عملية نقل الأكسجين بالجسم. ولا تعتبر هذه العملية ذات تأثير يذكر في الأشخاص البالغين بينما قد تكون بالغة الخطورة للأطفال الرضع دون الثلاثة أشهر وللحيوانات المجترة كذلك، ونظراً لحدوث هذا النوع من المرض نتيجة لاستهلاك المياه كما أن العديد من الحالات المرضية وجد أنها ترتبط بتركيز النترات في مصادر مياه الشرب فقد أوصت منظمة الصحة العالمية والعديد من البلدان بعدم احتواء مياه الشرب علي تركيزات من النترات تتعدى ١٠ جزء في المليون، وهو التركيز الذي ثبت أن الحالات المرضية السابق ذكرها للأطفال تكون نادرة الحدوث عنده أو دونه، وقد تبدو النترات مهمة من الناحية الطبية نظراً لوجودها في الغذاء وفي علف الحيوانات، فلقد وجد أن بعض النباتات تستهلك النترات الموجودة في التربة وتختزنها بكميات كبيرة داخل خلاياها، وتتميز بعض الأنواع بتراكم النترات بها بدرجة كبيرة كما في حالة الخضروات مثل البنجر، السبانخ، الكرفس، الخس، محاصيل العلف مثل الذرة الشامية والذرة الرفيعة وحشيشة السودان

والشـــوفان، وعلـــي الـــرغم مـــن عـــدم تـــوفر الأدلـــة علـــي حـــدوث مـــرض Methemoglobinemia في الأطفال نتيجة لنوع الغذاء المستخدم فإن عديداً من الأبحـاث قـد أجريـت لإيجـاد السـبل الكفيلـة للخفـض مـن تكـون النتـرات فـي التربـة المنزرعة بالخضروات وللحد من تراكمها في المحاصيل التي قد تتسبب في ظهور بعض المشاكل، أما بالنسبة لقطعان الماشية فقد تبين حدوث حالات نفوق نتيجة لاحتـواء علائـق الحيوانـات علـي أنـواع مـن النباتـات تتميـز باختزانـها للنتـرات بكميـة كبيرة.

ثالثاً: مركبات النيتروز أمين

لم تظهر حتى الأن مشاكل بيئية ناجمة عن مركبات النيتروز أمين وذلك لقلة احتمال تكونها في التربة، ولكن مدي فاعلية هذه المجموعة من المركبات يجعل تقييم الأضـرار الناشـئة عـن وجودهـا ضـرورية وتتميـز هـذه المركبـات بالتركيـب الكيميـائى التالي :

$$\begin{matrix} R \\ & \rangle N - N = O \\ R' \end{matrix}$$

حيـث ممكـن أن تكـون R و 'R عبـارة عـن مجمـوعتي ميثيـل أو سلاسـل كربونيـة مستقيمة أو حلقات أو مجاميع أخرى، ولقد جذبت هذه المركبات الانتباه حديثاً نظراً لأنه أصبح واضحاً أنها تسبب حدوث بعض الأمراض السرطانية والطفرات وبعض المظـاهر الشـاذة وأحيانـا وفـاة الأجنـة، ويتطلـب تكـون هـذه المركبـات وجـود أمينـات ثانويـة (R–NH–R) والنيتريـت حيـث يـتم بينهمـا تفاعل يتمثـل فـي عمليـة تكثيف بسيطة :

$$R - NH - R + NO_2^- \longrightarrow \underset{\displaystyle R}{\overset{}{}}R - N(R) - NO + OH^-$$

اختزال النترات وانطلاق الأزوت

Nitrate reduction & denitrification

تعمل تفاعلات دورة النيتروجين علي تحول عنصر النيتروجين من صورة لأخرى، فتؤدي عملية المعدنة إلي انطلاق النيتروجين علي صورة مركبات معدنية، أما عملية التمثيل فتحوله مرة أخرى إلي إحدى الصور العضوية غير القابلة للاستخدام، بينما تحول عملية التأزت العنصر من صورة مختزلة إلي صورة مؤكسدة، وتؤدي بعض التحولات التي تطرأ علي عنصر النيتروجين إلي فقد هذا العنصر الهام من التربة واللازم للإنتاج الزراعي، ويطلق علي الخطوات المتتابعة التي تؤدي في النهاية إلي فقد هذا العنصر بالتطاير بعملية انطلاق الأزوت والتي تعني اختزال الميكروبات للنترات والنيتريت تحت الظروف اللاهوائية مع انطلاق النيتروجين الغازي وأكاسيد النيتروجين، ولا تعتبر عملية انطلاق الأزوت الطريقة الوحيدة التي تختزل بها الميكروبات النترات والنيتريت، فعند استخدام كلتا المادتين كمصدر للنيتروجين اللازم للنمو فإن الميكروبات تختزلهما إلي نشادر، واختزال من هذا القبيل يعمل علي تحويل النيتروجين إلي صورة ملائمة لتخليق الأحماض الأمينية داخل الخلية أما في عملية انطلاق الأزوت فيفقد النيتروجين في الجو ولا يدخل في تكوين الخلية وعملية اختزال النترات تتم كما يلى:

$$NO_3^- \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow NH_4^+$$

وقد ينتج منها أيضا غاز N_2O , NO وهى عملية عكس التأزت، أما انطلاق النيتروجين فتحدث باختزال النترات إلى مجموعة من الأكاسيد النيتروجينية وغالبا تنتهى بغاز النيتروجين والتي تتم بوجود إنزيم Nitrate reductase الذي يختزل النترات إلى نيتريت والذي بدوره يختزل بواسطة Nitrite reductase إلى أكسيد النتريك NO والذي يختزل بواسطة Nitric oxide reductase إلى أكسيد نيتروز N_2O والأخير يختزل بواسطة Nitrous oxide reductase إلى غاز النيتروجين وتوجد هذه الإنزيمات في الغشاء السيتوبلازمي للخلية البكتيرية.

$$NO_3 \longrightarrow NO_2 \longrightarrow NO \longrightarrow N_2O \longrightarrow N_2$$

واختزال النيتريت الى أمونيا لم يعرف حتى الأن كيفية حدوث مثل هذه الخطوة، فعلي الرغم من أن الكثير من الميكروبات المختزلة للنترات تعمل علي تحويل الهيدروكسيل أمين إلي أملاح نشادر إلا أنه لا يتوفر الدليل الكافي لاعتبار أن الهيدروكسيل أمين هو المركب الوسطي لهذا التحول.

$$2HNO_3 \xrightarrow[-2H_2O]{+4H} 2HNO_2 \xrightarrow[-H_2O]{+2H} \begin{cases} 2NO \xrightarrow[-H_2O]{+2H} N_2O \xrightarrow[-H_2O]{+2H} N_2 \\ ? \longrightarrow [2NH_2OH] \longrightarrow 2NH_3 \end{cases}$$

وفي بعض الميكروبات يقوم الإنزيم المسئول عن اختزال النيتريت إلي نشادر باختزال الهيدروكسيل أمين، بل وتقوم الإنزيمات المختزلة لبعض المواد غير النيتروجينية في بعض الأحيان بتحويل الهيدروكسيل أمين إلي نشادر.

وعملية اختزال النترات وانطلاق الأزوت تعد إحدى طرق التنفس والتي تحل فيها النترات محل غاز الأكسجين لذلك يطلق عليها عملية التنفس النتراتي، في حين يطلق علي استخدام النترات كمادة غذائية بتمثيل النترات، وكلا التحولين السابقين يشتمل علي تفاعلات اختزال، ولكن الناتج النهائى لعملية التنفس النتراتى عبارة عن غازات متطايرة أما في حالة تمثيل النترات فإن الناتج النهائى يدخل في تركيب إحدى مكونات الخلية، ومن الناحية الزراعية تختلف علمية تمثيل النترات عن عملية انطلاق الأزوت في كون الأولى لا تعمل علي إزالة مركبات النيتروجين الصالحة للنبات بل تبقى في التربة.

انطلاق الأزوت Denitrification

لا تعتمد الميكروبات المسئولة عن عملية انطلاق الأزوت في نموها علي اختزال النترات فقط، حيث إن العديد منها يقوم بعمليات تحلل البروتينات والنشدرة وغيرها من التحولات الميكروبية الأخرى، وعلي ذلك فإن تواجد أعداد كبيرة من الميكروبات التي تقوم بعملية انطلاق الأزوت لا يعني في حد ذاته أن الظروف السائدة مواتية لهذه العملية، وتنتشر بكتريا انطلاق الأزوت في الأراضى المنزرعة حيث تصل أعدادها إلي المليون أو أكثر في الجرام الواحد من التربة، وتزداد كثافة هذه الميكروبات في المنطقة القريبة من جذور النباتات.

ولا تقوم كل من الفطريات والأكتينوبكتريا بنشاط يذكر في عملية انطلاق الأزوت حيث وجد أن ذلك يقتصر علي عدد محدود من البكتريا والتي من أهمها الأنواع التابعة لأجناس ***Paracoccus, Bacillus licheniformis, Pseudomonas*** ولو أن ميكروب ***Thiobacillus denitrificans*** وأحيانا أنواع من أجناس ***Corynebacterium, Chromobacterium, Hyphomicrobium*** و ***Serratia*** أيضاً تقوم بهذه العملية.

ومما هو جدير بالذكر أن الميكروبات تقوم بعملية اختزال النترات بهدف أكسدة المادة العضوية أو المعدنية للحصول علي الطاقة تحت الظروف اللاهوائية وتوضح المعادلات التالية اختزال النترات بواسطة الميكروبات.

١- الميكروبات الأوتوتروفية

$$S + 3KNO_3 + H_2O \longrightarrow H_2SO_4 + 3KNO_2 + Energy$$

$$5S + 6KNO_3 + 2H_2O \longrightarrow 4N_2 + K_2SO_4 + 4KHSO_4$$

٢- الميكروبات الهيتروتروفية

$$C_6H_{12}O_6 + 12KNO_3 \longrightarrow 6H_2O + 6CO_2 + 12KNO_2 + Energy$$

$$5CH_3\text{–}COOH + 8KNO_3 \rightarrow 10CO_2 + 4N_2 + 6H_2O + 8KOH + Energy$$

وتعتبر بكتريا انطلاق الأزوت هوائية ولكنها تستخدم النترات كمستقبل للإلكترونات أثناء نموها في غياب الأكسجين، وعلي هذا فإن الأنواع النشطة من هذه البكتريا تنمو هوائياً في غياب النترات ولاهوائياً في وجودها، وتحول معظم بكتريا انطلاق الأزوت النترات في النهاية إلي N_2 ، حيث يمكنها استخدام النترات والنيتريت و NO أو NO_2 كمستقبلات للإلكترونات أثناء نموها حيث تختزل هذه المركبات إلي N_2 ولو أن هناك بعض الميكروبات التي تقوم بتفاعلات اختزال غير كاملة مثل ميكروب ***Corynebacterium nephredii*** الذي يختزل النترات والنيتريت و NO ولكن مع إنتاج غاز N_2O وليس N_2 في النهاية.

ولذلك فهناك ثلاثة أنواع من التفاعلات التي تؤثر بها الميكروبات علي النترات:

(ا) اختزالها إلي أملاح النشادر مع حدوث ظهور مؤقت في بعض الأحيان للنيتريت.

(ب) اختزالها غير الكامل وتراكم النيتريت في البيئة.

(جـ) اختزال النترات إلي نيتريت ثم تصاعد مركبات غازية في النهاية وهو ما يعرف بعملية انطلاق الأزوت.

تأثير العوامل البيئية علي عملية انطلاق الأزوت

يصل معدل حدوث عملية انطلاق الأزوت إلى مستويات أقل في الأراضى الفقيرة في الكربون عنه في الأراضى الغنية في المادة العضوية.

١- يعتبر الأكسجين من العوامل البيئية الهامة المحددة لنمو بكتريا انطلاق الأزوت حيث تؤثر التهوية علي نشاط هذه الميكروبات من وجهتين:

فمن ناحية نجد أن عملية انطلاق الأزوت تستمر فقط عند تواجد الأكسجين بكميات غير كافية، ومن ناحية أخرى فإن وجود الأكسجين يعد ضرورياً لتكون مركبات النترات والنيتريت اللازمة لحدوث عملية انطلاق الأزوت، لذلك نجد أن حدوث عمليات فقد النيتروجين تتم بدرجة ملحوظة في أراضى الأرز الغدقة حيث تتأكسد الأمونيا إلي نترات في الطبقات السطحية المحتوية علي الأكسجين ثم تتحول النترات عند تغلغلها إلي الطبقات السفلية من التربة والتي تتوفر بها الظروف اللاهوائية إلي مركبات غازية بواسطة عملية انطلاق الأزوت، ويرتبط تطاير النيتروجين في الأراضى بمستوي الرطوبة، حيث تزداد عملية انطلاق الأزوت من النترات بارتفاع نسبة الرطوبة وكذلك في الأماكن سيئة الصرف.

٢- ويعتبر الأس الأيدروجينى من العوامل البيئية المؤثرة علي نشاط بكتريا انطلاق الأزوت، حيث وجد أن العديد من هذه البكتريا تعتبر حساسة للتركيز المرتفع من أيون الأيدروجين وعموماً فإنه من الصعب تحديد درجة الأس الأيدروجيني المناسبة لتطاير النيتروجين في جميع الأراضى.

٣- ويتأثر كذلك انطلاق N_2O من التربة بتركيز أملاح النترات، حيث يتصاعد هذا الغاز بدرجة كبيرة نسبيا عند وجود النترات بتركيزات مرتفعة أى عند توفر مستقبل الإلكترونات أى ملح النيتروجين بكميات تفوق معطي الإلكترونات أى المادة العضوية القابلة للتحلل ويختزل N_2O إلي N_2 بعد إضافة المادة العضوية.

٤-وتتأثر عملية انطلاق الأزوت بدرجات الحرارة، فتحدث هذه العملية ببطء عند ٢° م ولكنها تأخذ في الازدياد كلما ارتفعت درجة الحرارة حيث تصل إلي أقصى معدلاتها عند درجة ٢٥° م فأعلي، ويستمر حدوث هذه العملية بسرعة كبيرة عند درجات الحرارة المرتفعة حيث وجد أنها تستمر حتى ٦٠° م إلي ٦٥° م ولكنها تتوقف تماماً عند ٧٠° م، ومن النتائج الهامة لدراسة مشاكل التلوث البيئي ما يتوفر من أدلة علي أن الميكروبات تلعب دورا رئيسياً في دورات أكاسيد النيتروجين في الجو ولذلك فإنها تؤثر بدرجة غير مباشرة علي تعرض الحياة علي كوكب الأرض للتأثيرات الضارة للأشعة فوق البنفسجية، فعلي الرغم من السخط وعدم الرضا المتعلق بتسرب كميات من NO وNO_2 نتيجة لاحتراق الفحم والبترول والغازات الطبيعية وغيرها من أنواع الوقود التي تستخدمها الصناعة والسيارات فهناك بعض الأدلة التي تشير إلي أن الميكروبات تعمل علي انطلاق هذه الغازات الملوثة للجو بكميات قد تفوق بدرجة كبيرة وقد تصل إلي خمسة عشر أمثال الكميات الناتجة عن فعل الإنسان حيث تعمل ميكروبات التربة والبحار علي إنتاج NO الذي يتأكسد بدوره في الجو إلي NO_2 بل وتنتج هذه الميكروبات كميات أكبر من غاز N_2O ذاته، وعموماً لا يعتبر غاز N_2O بتركيزاته المنخفضة عند سطح التربة ضاراً ولكن عملية انطلاق الأزوت تنتج كميات من هذا الغاز تعتبر ذات أهمية بيئية وذلك لعلاقتها بمركب الأوزون O_3 الموجود في طبقات الجو العليا فيتكون الأوزون نتيجة لتفاعلات كيميائية ضوئية علي ارتفاعات كبيرة ويؤثر الضوء على تحلله.

$$O_2 \longrightarrow 2O \xrightarrow{2O_2} 2O_3$$

$$O_3 \xrightarrow{\text{light}} O_2 \longrightarrow O$$

وعلي الرغم من تواجد الأوزون بكميات ضئيلة في طبقات الجو العليا إلا أنه يعتبر حاجزا ضرورياً لحماية الكائنات الحية الدقيقة من التأثير الضار لفعل الأشعة فوق البنفسجية عند أطوال موجات أقل من ٣٠٠ نانومتر وفي غياب الدرع الواقي للأوزون يزداد ظهور حالات من سرطان الجلد بدرجة كبيرة بل قد تعمل الأشعة فوق البنفسجية في هذه الحالة علي الحد من نمو النباتات وتعمل ميكروبات انطلاق

الأزوت على إنتـاج غـاز N_2O الـذي ينتشر فـي طبقـات الغـلاف الجـوي حيـث يتأكسد إلي NO.

$$N_2O+O \longrightarrow 2NO$$

وقد يعتبر هذا التفاعل حقيقة المصدر الأساسى لوجود غاز NO فـي طبقات الغلاف الجوي حيـث يعمل كل مـن NO , N_2O النـاتج من مثل هذا التفاعل علـي تدمير بعض كميات من الأوزون الذي يستخدم كحزام واق ضد الفعل المـدمر للأشعة فـوق البنفسـجية، والتفـاعلات التاليـة توضـح خطـوات تـدمير الأوزون وإنتـاج NO_2، لهذا فإن ميكروبات التربة تلعب دوراً حرجاً علي الرغم من كونـه غير مباشر فـي دورة الأوزون في طبقات الجو.

$$NO + O_3 \longrightarrow NO_2 + O_2$$

$$NO_2 + O_3 \longrightarrow NO + 2O_2$$

لذلك فالاستعمال الزائد للأسمدة النيتروجينية بهدف رفع القيمة الغذائية لسكان المناطق الفقيرة في كثير من دول العالم والحصول علي الطعام اللازم لمواجهة الزيادة المستمرة في تعداد السكان قد يؤدي إلي تراكم كميات كبيرة من النترات وبالتالى ينتج الكثير من غاز N_2O عند اختزال النترات المتكونـة، وسوف يؤدى ذلك إلى تدمير كميات أكبر من الأوزون كما سبق ذكره مما يتسبب في ظهور حالات سرطان الجلد وغيرها من العواقب الوخيمة نتيجة الأشعة فوق البنفسجية التى تتسرب إلى طبقات الغلاف الجوى فى غياب غلاف الأوزون.

أهمية اختزال النترات فى التوازن البيئ

نظرا لان أملاح النترات شديدة الذوبان في الماء، وتفقد باستمرار مـن الأرض عن طريق ذوبانها فى الماء وحدوث عملية غسيل لها ، لذلك فبـدون خطوة الاختـزال فان كل النتروجين الموجود في الطبيعة سيتراكم في قاع الماء في صورة نترات وبـذلك يؤدي إلـى اختفـاء كثير مـن الكائنـات الحيـة فعمليـة الاختـزال تـؤدي إلـى إعـادة توليـد النتــروجين وانطلاقــه فـــي الهــواء الجــوي وبالتـــالي مهــم فـــي التـــوازن البيئـــي.

(الباب الثانى – الفصل الثانى)

تثبيت نيتروجين الهواء الجوي

Dinitrogen fixation (Diazotrophy)

من المعروف أن عنصر النيتروجين يتعرض للعديد من صور الفقد في التربة الزراعية، وصور الفقد هذه قد تكون بيولوجية أو غير بيولوجية منها امتصاص النباتات والغسيل مع ماء الصرف واختزال النترات وانطلاق الأزوت.

ويجب أن نشير إلي أن خصوبة التربة تتوقف بدرجة أساسية علي مقدار ما تحتويه من هذا العنصر الهام، ويتم تعويض ما يفقد من عنصر النيتروجين من التربة بإضافة الأسمدة النيتروجينية المعدنية والعضوية بالإضافة إلي ما تضيفه بعض أكاسيد الأزوت المتكونة بواسطة البرق والرعد إلا أن كل هذا لا يضيف إلي التربة إلا قدر ضئيل مما يفقد من هذا العنصر الهام، وتعتبر عملية تثبيت أزوت الهواء الجوي حيوياً هي العملية الأساسية والهامة في تعويض ما يفقد من عنصر النيتروجين من التربة.

تثبيت النيتروجين Nitrogen fixation

يقوم بمثل هذه العملية البكتريا والطحالب الخضراء المزرقة وبعض أنواع من الأكتينوميسيتات (جنس الفرانكيا) التي تتمكن من استخدام النيتروجين الغازى إما أثناء معيشتها علي حالة حرة أى لا تكافليا أو أثناء تعايشها تكافلياً مع أحد النباتات الراقية، وسوف نناقش فيما يلي صور المعيشة التكافلية ذات الأهمية الزراعية والتي تنشأ بين البقوليات وبكتريا الريزوبيوم أو بين الميكروبات وبعض النباتات غير البقولية.

والقدرة على التثبيت بيولوجيا موجودة في عدد من الميكروبات بدائيات النواة والتي تتميز باحتوائها على إنزيم النيتروجينيز Nitrogenase والذي يستطيع العمل على الرابطة الثلاثية لغاز النيتروجين ويختزله مكوناً الأمونيا التي تثبت داخل جسم الميكروب وتستخدم لبناء البروتين كما يلى:

Nitrogenase

$$N_2 + 8H^+ + 8e^- + 16\ ATP \xrightarrow{\text{Nitrogenase}} 2NH_3 + H_2 + 16ADP + 16Pi$$

وعلى الرغم من أن الأمونيا (NH_3) هى الناتج المباشر للتفاعل إلا أنها تتأين سريعاً إلـى (NH_4^+) ويحدث أحياناً أن تتحول الأمونيا إلى جلوتامات Glutamate من خلال مسار أيضى يعرف بالـ Glutamate synthetase pathway.

Glutamine synthetase

NH_3 +α−keto glutaric acid ⟶ Glutamic acid ⟶

Transamination to other α− keto organic acids $\xrightarrow{\text{Transaminases}}$

Other amino acids ⟶ Protein

الميكانيكية المقترحة لعملية تثبيت النيتروجين بيولوجياً

وفي الطبيعة فإن عملية تثبيت النيتروجين الجوي تلي عملية التمثيل الضوئي من حيث الأهمية لاستمرار الحياة علي الأرض، ويتم إنتاج الأمونيا في عملية التثبيت البيولوجية علي درجة الحرارة والضغط الجوي العادي، ولكن في الطريقة الكيماوية الشائع استخدامها وهي طريقة Haber& Bosch فان إنتاج الأمونيا باستخدام نيتروجين الجو وأيدروجين الغازات الطبيعية يتم في وجود حرارة وضغط مرتفعين مع عوامل مساعدة حسب المعادلة:

$$N_2 + 3H_2 \xrightarrow[\text{500°C at 250 atm.}]{\text{Ferric oxide}} 2NH_3$$

ونظراً للارتفاع المتزايد في أسعار الإنتاج في السنوات الأخيرة، فإن الاتجاه الأن هو محاولة الاستفادة الكاملة من عملية التثبيت البيولوجي للحد من استعمال الأسمدة المعدنية الأزوتية التي أصبحت أسعارها في غير متناول اليد، كما يسبب الإفراط في استعمالها تلوثاً للمياه والأراضي.

ولتوضيح الأهمية الاقتصادية لعملية التثبيت البيولوجي في محصول زراعي واحد مثل الفول البلدي ، فأنه بفرض أن عملية التثبيت توفر ٦٠ وحدة أزوت / فدان ثمنها أكثر من ٩٠ جنيها فإن الوفر الناتج عن زراعة مليون فدان لايقل عن ٩٠ مليون جنيه وينطبق القول علي المحاصيل البقولية الأخرى، ويتضح الأهمية الاقتصادية لعملية التثبيت عند مقارنة ثمن ١كجم نيتروجين بالسماد المعدني بثمن ١كجم نيتروجين الناتج من استعمال الطحالب أو الريزوبيا، حيث تنخفض القيمة فى الحالة الثانية جدا، ولقد قدر Hardy, Burns & Holston, 1973 كمية النيتروجين التي تثبتها الميكروبات من الهواء الجوي بما يقرب من $١٠^{٨}$ – $١٠^{٩}$ طن نيتروجين في السنة يتم تكوينها في التربة عن طريق دورة الأزوت الحيوية لتعويض ما فقد من هذا العنصر الهام، وطبقاً للإحصائيات الحديثة فأن ما يزيد عن ٩٠٪ من نيتروجين التربة في العالم يسترجع ثانية عن طريق عمليات التثبيت الحيوية Biological fixation بواسطة الميكروبات، أما ما يثبت بواسطة غير الميكروبات فيقدر بحوالي ٠,٥٪ بواسطة البرق وبحوالي ٥٪ بطريقة هابر/بوش، ويمكن تقسيم الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي كما يلي:

أولاً: تثبيت النيتروجين لاتكافلياً Non – symbiotic N_2 fixation

يوجد العديد من سلالات الميكروبات بدائية النواة لها القدرة علي تثبيت النيتروجين الجوي لاتكافلياً ومنها:

١–البكتريا الهتيروتروفية **Heterotrophs**

أ–بكتريا هوائية مثل الأنواع التى تتبع أجناس *Azomonas, Azotobacter, Azotococcus, Beijerinckia, Derxia, Methylomonas* and *Bacillus*.

ب–بكتريا احتياجاتها بسيطة للأكسجين مثل الأنواع التى تتبع أجناس *Campylobacter* and *Azospirillum*.

ج–بكتريا لاهوائية اختياراً مثل الأنواع التى تتبع أجناس *Enterobacter* and *Klebsiella*.

د–بكتريا لاهوائية مثل الأنواع التى تتبع أجناس

Desulfotomaculum, Clostridium and *Desulfovibrio.*

٢– البكتريا الممثلة للضوء **Phototrophs** ومنها نوعان:

(أ) بكتريا ممثلة للضوء غير أكسجينية: وهى بكتريا لاهوائية ولاينطلق من التمثيل الضوئى لها أكسجين ومنها الأنواع التى تتبع أجناس *Rhodopseudomonas, Rhodomicrobium* and *Rhodospirillum* والتى تنتمي إلي البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية وجنس *Chromatium* من بكتريا الكبريت الأرجوانية وجنس *Chlorobium* التابع لبكتريا الكبريت الخضراء.

(ب) البكتريا الممثلة للضوء الأكسجينية وهى السيانوبكتريا (البكتريا الخضراء المزرقة) وهى التي لها القدرة على التمثيل الضوئى وإنتاج أكسجين ومنها الأنواع التى تتبع أجناس *Anabaena, Calothrix, Mastigolcadus, Nostoc Oscillatoria, Plectonema, Scytonema, Stigonema,* *Tolypothrix,* and *Westiellopsis*.

أهم الميكروبات المثبتة لأزوت الهواء الجوي لاتكافلياً:

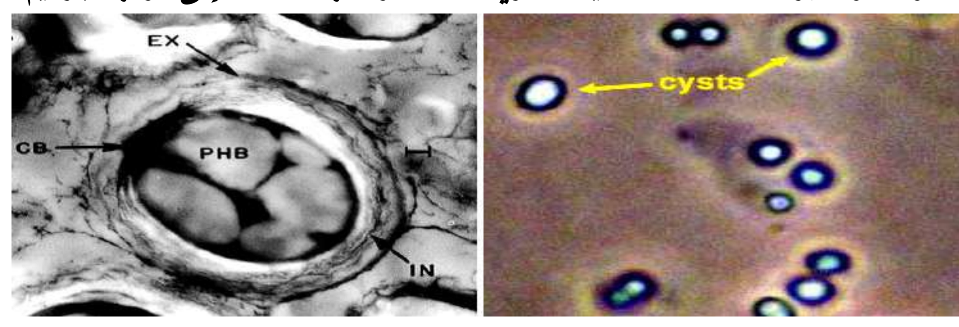
بكتريا الأزوتوباكتر *Azotobacter*

جنس الأزوتوباكتر ***Azotobacter*** من البكتريا السالبة لصبغة جرام، وهى كانت تابعة لعائلة **Azotobacteriaceae** فى تقسيم برجى ١٩٩٤، إلا أنه تبعاً لتقسيم برجى ٢٠٠٥ فهى موجودة فى المجلد الثانى **Proteobacteria** وتتبع رتبة **Pseudomonadales** وعائلة **Pseudomonadaceae** بناءً على تحليل تتابع القواعد النيوكليوتيدية **16s rRNA**، وهى هوائية حتما، حيث يعتبر معدل تنفسها من أكبر المعدلات مقارنة بالميكروبات الهوائية الأخرى والميكروب يكون صبغات صفراء أو بنية غامقة غير قابلة للذوبان بالبيئة، وهذا الميكروب يعيش أساساً في التربة لذلك يطلق عليه **soil-dwelling bacteria** وهى بكتريا منها المتحرك ومنها غير المتحرك، كما أن هذه البكتريا متعددة الأشكال **Polymorphic** غالبها بيضاوى الشكل لكن منها العصوى والكروى، ومع تقدم عمر المزرعة تفقد الخلية

القدرة على الحركة ويصبح شكلها يميل إلى الكروى وتنتج طبقة سميكة من المخاط حولها تسمى Cysts .

تركيب الـ Cysts

تتكون الـ **Cysts** من الألجينات وبعض السكريات العديدة، حيث تجعلها أكثر مقاومة للحرارة والظروف الفيزيائية والكيميائية الأخرى عن الخلية الخضرية. وتتكون الـ **cysts** تبعا لتغير تركيز المغذيات فى الوسط. وهى نادرا ما تتكون فى البيئة السائلة. وهى ذات شكل كروى تتكون من جسم مركزى **central body** حيث يحتوى على مكونات الخلية الخضرية مع وجود فجوات وتحتوى على **Poly β-hydroxybutyrate**، ويحيط بها طبقتين الداخلية منها تسمى **Intine** وتركيبها من الألجينات أما الخارجية فتسمى **Exine** وتركيبها السكريات العديدة والبروتين والدهون، وتعتبر الـ **Cysts** خلايا خضرية ساكنة ولكنها لاتصل إلى كونها جراثيم.



شكل ٢(٢)١: ***Azotobacter chroococcum***

EX, exine; IN, intine; CB, central body; PHB, poly-hydroxybutyrate.

من أهم الأنواع التى تنتمي إلي هذا الجنس ما يلي:

متحرك – يفرز صبغة بنية غامقة	*Azotobacter chroococcum*
غير متحرك يفرز صبغة صفراء	*Azotobacter beijerinckii*
متحرك- يفرز صبغات خضراء مصفرة إلي حمراء أرجوانية - يحلل المانيتول	*Azotobacter vinelandii*
متحرك- يفرز صبغات خضراء مصفرة أو حمراء أرجوانية- لا يحلل المانيتول	*Azotobacter paspali*

النمو والتغذية لـ *Azotobacter*

الأزوتوباكتر لا يستطيع أن يحلل الكربوهيدرات المعقدة مثل السليولوز، لذلك فإنه يحصل علي مصادر الكربون والطاقة من السكريات البسيطة أو الأحماض العضوية الناتجة في التربة بفعل الميكروبات الأخرى. وتستخدم هذه الميكروبات القليل من مركبات النيتروجين والتي منها النيتروجين الجوي ، النشادر ،النترات ، النيتريت واليوريا وأحياناً ما تستخدم بعض المركبات النيتروجينية العضوية، ونظرا لأنه لا يستطيع تحليل الكربوهيدرات المعقدة لذلك نجده يحصل على الطاقة بالمعيشة التعاونية مع ميكروبات التربة الأخرى التي تحلل المواد المعقدة والتي تنتج المواد البسيطة اللازمة لنموه.

ومن العوامل التى تؤثر علي انتشار بكتريا الأزوتوباكتر في التربة المادة العضوية وحموضة التربة ، ووجود بعض العناصر الهامة مثل الفوسفور والحديد والموليبدنم، ودرجة الحرارة تعتبر من العوامل الهامة حيث نجد أن أهمية هذه البكتريا في المناطق الباردة من العالم تكون ضئيلة، ولكن تحت ظروف المناطق الاستوائية أو شبه الاستوائية تزداد أهمية هذه البكتريا في تثبيت أزوت الهواء الجوي وإفراز العديد من المواد المنشطة للنمو.

وتعتبر أفراد هذه المجموعة من الميكروبات ذات احتياجات متوسطة للحرارة، وتقع درجة الحرارة المثلي لنموها بالقرب من ٣٠°م وعند نمو هذه الميكروبات في وجود النيتروجين الجوي فإنها تعمل علي زيادة محتوي النيتروجين الكلي بالبيئة بكميات قد تفوق ١ مجم لكل سم^{3}، وأنسب درجة حموضة لهذا الميكروب تتراوح من ٦,٥-٨ لذلك نجد أن الأراضى المتعادلة أو التى تميل قليلاً إلي القلوية يوجد بها الأزوتوباكتر بأعداد عالية جداً بعكس الأراضى الحمضية حيث تتواجد بكتريا الآزوتوباكتر بأعداد قليلة، وتستطيع بكتريا الأزوتوباكتر أن تعيش في صورة تعاونية مع بعض أنواع البكتريا الخضراء المزرقة (السيانوبكتريا) مثل النوستوك والأنابينا حيث تمد السيانوبكتريا الأزوتوباكتر بمصادر الكربون والطاقة مثل الكربوهيدرات الناتجة من التمثيل الضوئى للسيانوبكتريا.

تثبيت الأزوت بواسطة *Azotobacter*

يثبت الأزوتوباكتر نيتروجين الهواء الجوى حرا فى التربة (لاتكافليا) بعكس الريزوبيا، وتثبط عملية التثبيت فى وجود مصادر نيتروجينية ميسرة مثل الأمونيا والنترات، والأزوتوباكتر يستطيع أن يثبت كميات كبيرة من الأزوت وكلما كان الوسط خالى من أملاح النيتروجين يزداد معدل التثبيت ولكن لابد من توفر مصادر الطاقة اللازمة للتثبيت، ويعتبر عنصر الفوسفور هام جداً للأزوتوباكتر.

وتشير نتائج الأبحاث الحديثة أن إضافة لقاحات الأزوتوباكتر إلي التربة عند الزراعة أو أثناء موسم النمو تؤدي إلي تحسين الإنتاجية وزيادة خصوبة التربة لاسيما عند إضافة لقاحات الأزوتوباكتر مع لقاحات الميكروبات المذيبة للفوسفات، وعند قياس كفاءة هذه الميكروبات علي تثبيت النيتروجين الجوي لوحدة الوزن من السكر المؤكسد نجد أنها تنحصر من ٥ إلي ٢٠ مجم نيتروجين مثبت لكل جرام سكر مؤكسد، مع أنه قد تم الحصول في بعض الأحيان علي كميات تفوق ٣٠ مجم. ويعتبر النوع *A. chroococcum* من أكثر أنواع الأزوتوباكتر انتشاراً في المناطق الباردة وتختلف الكثافة العددية لميكروبات الأزوتوباكتر من الصفر إلي عدة آلاف في الجرام من التربة، وتتواجد بكثافة كبيرة نسبيا في بعض المناطق حيث وجد أن أعدادها في بعض الأحيان تتعدى $١٠^{٦}$ لكل جرام من أراضى شمال أفريقيا، مثل الأراضى المصرية كما أن جذور بعض النباتات النجيلية بالمناطق الاستوائية تزدحم بمثل هذه الميكروبات ويبدو أن تحت مثل هذه الظروف الفريدة قد تساهم هذه الميكروبات في زيادة محتوي التربة من النيتروجين، كما أنها تفرز العديد من منشطات النمو للنبات.

بكتريا *Beijerinckia*

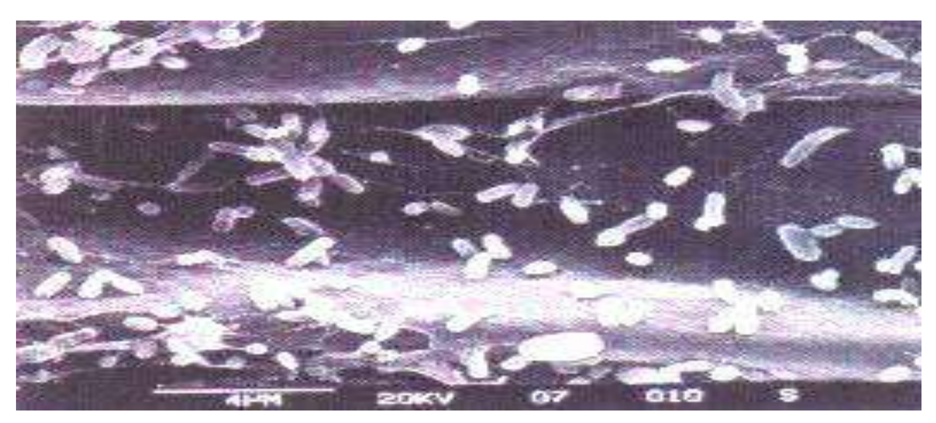
تعتبر أنواع جنس *Beijerinckia* من الميكروبات المثبتة لنيتروجين الهواء الجوى تحت الظروف الهوائية، ولكنها تتميز بنموها جيدا عند أرقام الأس الهيدروجيني الحمضى وقد تصل في بعض الأحيان إلي رقم الأس الهيدروجيني ٣ ، وتتواجد هذه الميكروبات في الأراضى الاستوائية، وتوجد أعداد تتراوح من أفراد قليلة

إلي عدة آلاف لكل جرام ، ويندر وجود مثل هذه الميكروبات في أراضى المناطق الباردة. وبدرجة مماثلة نجد أن ميكروبات ***Derxia*** هوائية في نموها ومقاومة أيضاً لأرقام الأس الهيدروجيني الحمضية حيث يمكنها النمو في البيئات المعملية عند درجات الأس الهيدروجيني من ٥ –٩، ولقد تم العثور علي سلالات هذا الجنس في أراضى أسيا والبرازيل، ولكن لم تحظ هذه المجموعة من الميكروبات إلا بقدر قليل من الاهتمام .

بكتريا *Azospirillum*

وضعت بكتريا ***Azospirillum*** تبعا لتقسيم برجى فى المجلد الثانى الذى صدر عام ٢٠٠٥ تبع عائلة **Rhodospirillaceae** تحت رتبة **Rhodospirillales** تحت طائفة **Alphaproteobacteria** والتى تتبع شعبة**Proteobacteria** . وهى بكتريا ذات شكل عصوى منحنى قصير سالب لصبغة لجرام غير متجرثم متحرك بخصلة من الفلاجلات الطرفية وهو هوائى ولكن يثبت النيتروجين تحت الظروف قليلة الأكسجين **Microaerophilic** أى عند ضغط أكسجينى PO_2 أقل من ٠,٠١ جوى، والحرارة المثلى له من ٢٥–٣٠° م ويلائمه الوسط المتعادل حيث أنه حساس للحموضة ، ويحصل الميكروب على الطاقة من أكسدة الأحماض العضوية مثل اللاكتيك أو الماليك، وينمو جيدا في بيئة الجلوكوز أو السكروز ولكنها تشجع نمو ميكروبات أخرى معه كما يعزل هذا الميكروب على بيئة نصف صلبة بها مالات الكالسيوم ومستخلص الخميرة ويوجد نوعين هما :

- ***Azospirillum brasilense*** وهو موجب لاختبار الكتاليز ولا يحتاج في نموه إلي بيوتين.
- ***Azospirillum lipoferum*** وهو سالب لاختبار الكتاليز ويحتاج في نموه إلي البيوتين وهذا النوع هو الأكثر انتشاراً في الأراضى المصرية.



شكل ٢(٢)٢: بكتريا ***Azospirillum brasilense***

وينتشر هذا الميكروب في أراضى الحشائش والمنزرعة حبوب. ويعتبر هذا الميكروب من أهم الميكروبات المثبتة نظرا لأنـه يستطيع تثبيت النيتروجين في الحالـة الحرة وأيضـا بالتعـاون مـع جذور بعض النباتـات وأكثرها النباتـات النجيليـة. حيث يـدخل الميكروب إلى داخل الجذر بمساعدة إنزيمات البكتينيز التـي يفرزها ثم يستقر داخل الصفيحة الوسطى أو علـى سطوح تلـك الجذور ولـذلك فهـى نصف تكافليـة ويطلـق عليها Semi-symbiotic N_2-fixer ، ومما هو جدير بالذكر أن هذا الميكروب يثبت الأزوت بكفاءة عالية حيث يستطيع تثبيت كميات من الأزوت بمعدلات تقترب من الكمية التى تثبت بواسطة الأزوتوباكتر حيث تبلـغ ٣٠ كجم أزوت/ فدان/ سنة، وميكروبات الأزوسبيريلام تستخدم حالياً بكثرة كمخصبات حيويـة لمعظم محاصيل الحبوب مثل الذرة والقمح والشعير والذرة الرفيعة وقصب السكر والأرز، ولقد تم عزل نـوع أخـر للأزوسـبيريلام مـن منـاطق الأمـازون بأمريكـا الجنوبيـة بواسـطة Dobereiner (1983) أسمته *Azospirillum amazonenses* حيث يوجد بكثرة في أراضى النجيليات والنخيل، وهذا النوع يختلف كثيراً عن الأنواع السابقة حيث أنه حساس للقلوية والأكسجين.

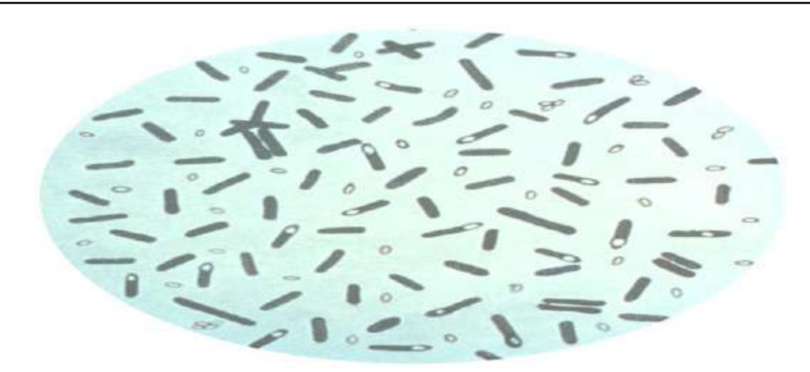
ويجب أن تشير إلي أن النوع *A. brasilense* يستطيع أن يتعايش بدرجـة أكبر مـع النباتـات ذات نظام التمثيل الضوئى C_3 أى النباتـات ثلاثيـة الكربـون ومـن هذه النباتـات الأرز، القمـح، الشعير والراى، أمـا النـوع *A. lipoferum* يستطيع أن يتعايش بدرجة أكبر مع النباتات ذات نظام التمثيل الضوئى C_4 أى النباتـات رباعية

الكربون مثل الذرة والذرة السكرية ونباتات المراعي، وتشير نتائج الأبحاث الحديثة أنه يمكن إضافة مثل هذه الميكروبات كمخصبات حيوية لمعظم المحاصيل خاصة محاصيل الحبوب والخضر حيث تستطيع أن تثبت كميات لا بأس بها من الأزوت بالإضافة إلي قدرة هذه الميكروبات علي إنتاج المواد المحفزة لنمو النبات مثل إفراز الكثير من منشطات النمو مثل الإندولات والجبريللينات والسيتوكينينات.

وتحت ظروف نقص أو محدودية الحديد فان الأزوسبيريللام تفرز نوع من السيديروفورز يسمى **Spirillobactin** وهو نوع من السيديروفورز الفينولية والتى لها القدرة العالية على خلب وتكوين معقد مع الحديد والحصول عليه بمستقبلات خاصة على السطح الخارجى للبكتريا، هذا بجانب وجود أنواع أخرى من السيديروفورز تنتجها أنواع الأزوسبيريللام.

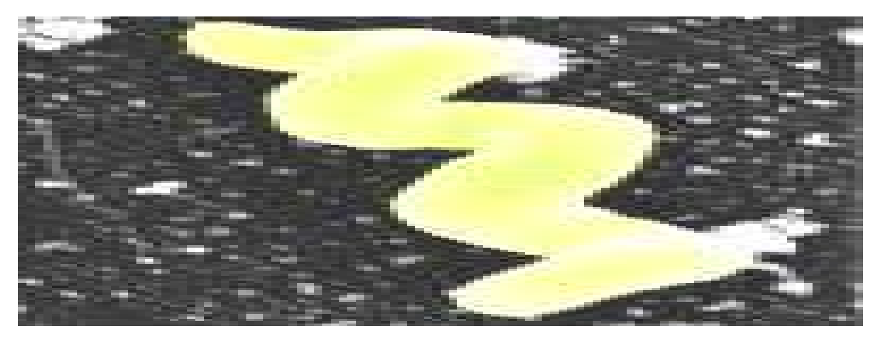
البكتريا المثبتة للنيتروجين اللاهوائية Anaerobic N_2-fixers

أكثر الميكروبات اللاهوائية المثبتة للنيتروجين الجوي هي أفراد جنس الكلوستريديوم ***Clostridium*** والذي تتراوح أعدادها في الأراضى الزراعية من 10^2 إلي 10^5 خلية لكل جرام تربة. وأهم الأنواع السائدة من هذا الجنس والتي تثبت النيتروجين الجوي هى ***Cl.butyricum, Cl.acetobutylicum Cl. pasteurianum,*** وهى ميكروبات موجبة لصبغة جرام تكون جراثيم طرفية أو قريبة من الطرف، وعلي النقيض من ميكروبات الأزوتوباكتر يمكن لأفراد هذه المجموعة التواجد عند درجات الأس الهيدروجيني ٥ كما أنه يمكنها النمو عند رقم الأس الهيدروجيني ٩، كما أن هذه الأنواع تتفوق عددياً على العديد من الميكروبات في التربة إلا أنها لا تظهر بمجاميع واضحة على البيئات الصناعية عند عدها وهذا يعطى لها أهمية خاصة.



شكل ٢(٢)٣: بكتريا *Clostridium pasteurianum*

وتقوم هذه الميكروبات عند نموها في ظل ظروف بيئية مشجعة بتثبيت كميات تصل إلي ١٨٠ ميكروجرام من النيتروجين الجوي لكل سم٣ من مزارعها السائلة. وتصل كفاءتها في تمثيل النيتروجين الجوي من ٢ إلي ١٠ ملجم نيتروجين لكل جرام كربوهيدرات مستهلك، وتشير الدراسات الحديثة إلي أن الأراضى المصرية يتواجد بها أعداد كبيرة من بكتريا الكلوستريديوم حيث قد تتجاوز المليون/جم تربة، كذلك وجد أن هذه البكتريا تنتشر بكثرة في الأراضى القلوية والصحراوية والغدقة المنزرعة بالأرز ويوجد ميكروبات أخرى لاهوائية تستطيع أن تثبت الأزوت مثل *Desulfovibrio & Desulfotomaculum*.



شكل ٢(٢)٤: بكتريا *Desulfovibrio*

السيانوبكتريا (البكتريا الخضراء المزرقة) Cyanobacteria

لا تنتشر السيانوبكتريا في الأراضى ذات الصرف الجيد بينما تتواجد بكثافة عددية كبيرة في الأراضى الغدقة، وتتميز العديد من هذه الميكروبات المعزولة من التربة بنموها في بيئات سائلة خالية من مركبات النيتروجين مؤدية بذلك إلي زيادة محتوي النيتروجين الكلي لهذه البيئات، ومع ذلك فليست كل السيانوبكتريا قادرة علي

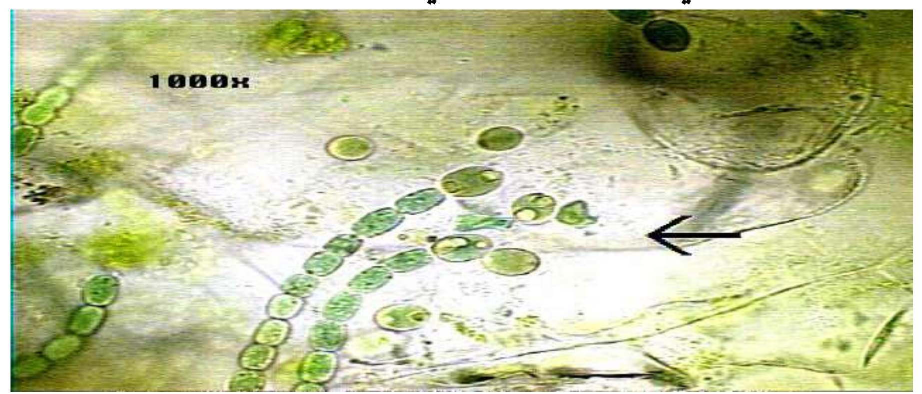
استخدام النيتروجين الجوي، وتؤدي زيادة الإضاءة إلي تشجيع عملية تثبيت النيتروجين الجوي التي تقوم بها الأنواع النشطة من السيانوبكتريا بينما تعمل الإضاءة الشديدة علي تثبيط هذه العلمية.

وعموماً تقوم هذه الميكروبات بتثبيت النيتروجين الجوي ببطء حيث وجد أن الزيادة في محتوى النيتروجين الكلي في بيئاتها من ٣٠ إلي ١١٥ ميكروجرام نيتروجين لكل سم^{٣} يحتاج إلي ١.٥ إلي ٢ شهر لمعظم العزلات التابعة لأجناس *Anabaenopsis, Aulostria, Tolypothrix, Nostoc, Cylindrospermum, Anabaena, Calothrix* and *Aulosira* . لهذا فإن عملية تثبيت النيتروجين الجوي التي تقوم بها هذه الميكروبات تعد أقل سرعة منها في حالة الأزوتوباكتر والكلوستريديا، ويتمكن العديد من هذه الميكروبات في مزارعها النقية من النمو البطئ في الظلام بشرط توفر السكر اللازم كمصدر للكربون والطاقة ويستتبع ذلك زيادة ضئيلة في محتوى بيئاتها من النيتروجين الكلي، وقد لا يكون لتثبيت النيتروجين الجوي في الأجواء المظلمة أى أهمية اقتصادية في حين نجد أن توفر الإضاءة الكافية لكل من السيانوبكتريا يشجع نمو هذه الميكروبات بدرجة أكبر من الميكروبات غير الذاتية التغذية المثبتة للنيتروجين الجوي وذلك لمقدرة الأولي علي النمو دون اعتماد علي مصادر المواد الكربوهيدراتية المحدودة في التربة ويمكن تقسيم هذه المجموعة من الميكروبات إلي:

١- السيانوبكتريا Heterocystous مثل *Mastigocladus, Cylindrospermum, Anabaena, Nostoc* حيث تكون خلايا متحوصلة كبيرة الحجم (هيتيروسيست) والتي تظهر تحت الميكروسكوب بجدر مغلظة وبكونها شبه فارغة، هذه الخلايا المتحوصلة تقوم بدور هام حيث أنها تعتبر المراكز النشطة في تثبيت النيتروجين الجوي لكونها تحتوى على إنزيم النيتروجينيز الذي يقوم بعملية التثبيت والحساس بشدة لوجود الأكسجين وبذلك تحميه من الأثر السيء للأكسجين.

٢- السيانوبكتريا التى لا تكون هيتيروسيست Non-heterocystous مثل *Plectonema, Spirulina, Phormidium, Oscillatoria* and

Lyngbya ولكنها تثبت النيتروجين تحت الظروف اللاهوائية مع أنها تستطيع النمو في الظروف الهوائية في وجود النيتروجين في البيئة.



شكل ٢(٢)٥: النوستوك وبه خلايا الهيتيروسيست

٣- الأجناس الأخرى وحيدة الخلية والتي لا تكون أى حويصلات مثل *Gloeocapsa and Aphanotheca* يمكنها أيضاً تثبيت النيتروجين الجوي ولكن تحت ظروف هوائية لاحتوائها على نظام يستطيع الفصل بين عملية تثبيت النيتروجين وعملية إنتاج الأكسجين حيث يتواجد إنزيم النيتروجينيز في داخل أغشية خاصة تحميه من الأكسجين.

تعتبر المجموعة الأولي من السيانوبكتريا المكونة للهيتيروسيست من أكثر الأنواع التي درست، ولها القدرة علي تثبيت النيتروجين في وجود الهواء الجوي، لوجود إنزيم النيتروجينيز في خلايا خاصة لا تنتج أكسجين لكونها لا تحتوى على كلوروفيل ولا يحدث بها بناء ضوئى وهي خلايا الهيتيروسيست، وفي مثل هذه السيانوبكتريا يوجد منافذPore channels بين الخلايا تسمح بتبادل الكربوهيدرات والنيتروجين بين الهيتيروسيست والخلايا الخضرية.

أما المجموعة الثانية التي لا تكون هيتيروسيست ، فقد اكتشفت قدرتها علي التثبيت بواسطة Stewart & Lex (1970)، وهذه السيانوبكتريا وإن كانت تستطيع النمو لا هوائيا في وجود أزوت بالبيئة إلا أنها لا تثبت النيتروجين إلا تحت ظروف لا هوائية لعدم وجود نظام بالخلايا يحمي إنزيم النيتروجينيز من أكسجين الهواء الجوي وفي هذا تتشابه مع البكتريا الممثلة للضوء المثبتة للأزوت.

أما المجموعة الثالثة (الوحيدة الخلية) فتثبت النيتروجين تحت ظروف هوائية نظرا لوجود نظام كفء من الفصل Compartmentalization بين النظام المنتج للأوكسجين والنظام المثبت للنيتروجين داخل الخلية الواحدة، حيث يحاط إنزيم النيتروجينيز بما يشبه الأغشية التي تحميه من الأكسجين وتقوم السيانوبكتريا التي أهمها *Nostoc, Anabaena* بتثبيت النيتروجين بدرجة عالية إلا أنها تحتاج إلي إضاءة قوية وثاني أكسيد الكربون لكي تثبت النيتروجين في البيئة الصناعية، وهذه الميكروبات يمكن اعتبارها عائشة علي الهواء الجوي أساساً من حيث تغذيتها فهي هوائية وتستعمل CO_2 الجو كمصدر للكربون، والنيتروجين الجوي لتكوين البروتين ويستطيع *Nostoc* أن يثبت ١٠ ملليجرام نيتروجين في ٤٥ يوم ١٨ ملليجرام في ٨٥ يوم لكل ١٠٠سم^3 من البيئة.

وفي موسم الأرز تثبت هذه السيانوبكتريا من ١٠-٢٥ كجم أزوت / فدان، ولقد وجد أن حوالي ٣٠٪ من الأزوت المثبت بالطحالب ينساب إلي الوسط الخارجي في صورة أحماض أمينية أهمها الجلوتاميك والأسبارتيك ثم الألانين كما وقد ينساب النيتروجين المثبت في صورة أمونيا.

وعندما تزيد كمية النيتروجين المثبتة بالسيانوبكتريا أو في البيئة عن حاجته فإن الطحلب يخزن هذا النيتروجين الزائد في مركبين أساسيين:

١- صبغة الـ Phycocyanin التي تعمل مع صبغات النظام الضوئي رقم ٢ (وهو الخاص بتحليل الماء وانطلاق الأكسجين) كمخزن للنيتروجين وتمد السيانوبكتريا به في حالة نقصه.

٢- الحبيبات البنائية Structural granules وهي غالباً عبارة عن بوليمر من حمض الأسبارتيك والأرجنين التي قد تشغل في بعض الأحيان من ١٠-٣٠٪ من وزن الخلية.

وتوجد السيانوبكتريا في المياه العذبة والمالحة وينتشر الجنسان *Nostoc & Anabaena* علي نطاق واسع في الأوساط المائية.

عملية تثبيت النيتروجين الجوي تتم في الخلايا الخضرية في السيانوبكتريا تحت شروط لا هوائية وذلك في السيانوبكتريا التي لا تكون هيتيروسيست، بينما العملية تتم تحت الظروف الهوائية في السيانوبكتريا المكونة للهيتيروسيست حيث نجد أن هذه الخلايا هي مكان التثبيت بينما تقوم الخلايا الخضرية بعملية تثبيت الكربون وإخراج الأكسجين، تمتاز خلايا الهيتيروسيست عن الخلايا الخضرية في أنها خالية من صبغة الفيكوسيانين ومن حبيبات **Polyphosphate** ومن النظام الضوئي رقم ٢ ، غير أنها تحتوي علي النظام الضوئي رقم ١المسئول عن تثبيت ثانى أكسيد الكربون في حالة نشطة، ولها منافذ تربطها بالخلية الخضرية ونسبة الكربون إلي النيتروجين بها حوالي ٨ :١وخلايا الهيتيروسيست النشطة تكون خالية من الصبغات الضوئية .

عمر الجيل في السيانوبكتريا أطول من مثيله في البكتريا حيث يبلغ ٢٠-٢٥ ساعة في حالة ***Nostoc & Anabaena*** ، ولتنمية السيانوبكتريا الخيطية المكونة للهيتيروسيست تستعمل طريقة المزرعة الثابتة لأن استعمال طريقة المزرعة المهتزة بما فيها من رج وتقليب يترتب عليه كسر خيوط السيانوبكتريا وتقليل كفاءته في التثبيت، وبالإضافة إلي عوامل الإضاءة والتهوية وتوفر عناصر التغذية فإن العوامل البيئية المؤثرة علي كفاءة السيانوبكتريا في النمو والتثبيت ما يلي:

١- الجفاف **Desiccation** : يعتبر الجفاف من العوامل الهامة المحددة لمعدل النمو والتثبيت ويزيد المعدل بزيادة رطوبة الوسط.

٢- الحرارة **Temperature** : يتأثر معدل التثبيت بدرجة الحرارة، ويحدث أعلي معدل تثبيت لأعلي الأنواع ما بين درجة ٢٥-٥٠°م ويبدو أنه لا يحدث تثبيت بعد درجة حرارة ٦٠°م.

السيانوبكتريا والمعيشة التكافلية

تستطيع بعض أنواع السيانوبكتريا أن تثبت النيتروجين الجوي وهي في معيشة تعاونية مع نباتات أخري متعددة تتراوح ما بين الفطريات إلي مغطاة البذور، ولكل عائل نوع خاص به وذلك كما يتضح من الجدول التالي:

Cyanophyta: Eucaryotic plant symbiosis.

Symbiotic plant	Genera	Endophyte
Fungi (lichens) الأشنات	*Collema, Peltigera*	*Nostoc*
Bryophyta الحزازيات	*Anthoceros, Blasia*	*Nostoc*
Pteridophyta (Ferns) السراخس	*Azolla*	*Anabaena*
Gymnosperm(Cycads) معراة البذور	*Cycas, Macrozamia*	*Nostoc, Anabena*
Angiosperm مغطاة البذور	*Gunnera*	*Nostoc*

أهمية السيانوبكتريا

أهمية السيانوبكتريا في الأراضي في تثبيت النيتروجين ما زالت موضع جدال، إذ أنه من المعروف أنها تثبت أزوت الهواء الجوي عند تعرضها لأشعة الشمس وعليه فيتحتم أن توجد علي سطح التربة، ولكن العمليات الزراعية كالحرث والعزيق تدفنها بالأرض، وفي هذه الحالة تصبح الخلايا غير قادرة علي تثبيت الأزوت، ولكن السيانوبكتريا لها أهمية كبيرة في الأراضي المزروعة بالأرز والنباتات المائية حيث تغمر الأراضي بالمياه لمدد طويلة، وفي هذا المجال تعتبر السيانوبكتريا الخيطية وخاصة المكونة للهيتيروسيست من أنسب الكائنات المجهرية للتسميد الأزوتي في هذا الوسط حيث لها القدرة علي التثبيت في وجود الماء مستخدمة الطاقة الشمسية وهذه هي احتياجاتها الأساسية للتثبيت الأزوتي بالإضافة إلي الفوسفور.

ويحتاج الأرز إلي ٤٠ وحدة أزوت للفدان ولقد وجد أن استخدام مائة جرام سيانوبكتريا جافة للفدان وقت شتل الأرز توفر من ثلث إلي نصف كمية الأزوت اللازم أي من ١٥-٢٠ وحدة أزوت للفدان.

ويتم حالياً في محطة البحوث الزراعية بسخا إنشاء صوب لإنتاج سيانوبكتريا ذات كفاءة عالية في تثبيت الأزوت لاستخدامها كلقاح للأرض المنزرعة أرزاً مما يوفر ٧٥٪ من احتياجات الأرز علي الأقل من السماد الأزوتي المعدني، وتعطي الصوبة المقامة علي مساحة فدان ما يكفي لتلقيح ٥٠ ألف فدان أرز سنوياً بالسيانوبكتريا.

وبالإضافة إلي قدرة السيانوبكتريا علي تثبيت أزوت الهواء الجوي، فأنها تفرز مجموعة من العوامل المساعدة علي النمو مثل **IAA** وفيتامينات مثل B_{12} وحمض الإسكوربيك حيث تؤدي عملية التلقيح إلي زيادة إنتاج المحصول المنزرع.

وتستخدم السيانوبكتريا في الأراضي المزروعة أرز في بعض البلاد كما في الهند لمعالجة الأرض القلوية التي يصل فيها الـ **pH** إلي ٩,٥ أو أكثر حيث تستعمل السيانوبكتريا أيون الكربونات كمصدر كربوني لبناء أجسامها .

كما تجري الأن تجارب لإنتاج سلالات من السيانوبكتريا المثبتة للأزوت تكون خالية من إنزيم **Glutamine synthetase** فلا يتحول الأزوت المثبت بأجسامها في صورة أمونيا إلي أحماض أمينية ولكن تنساب تلك الأمونيا خارج الخلايا إلي البيئة حيث يمكن استخدامها في إنتاج المخصبات الحيوية الأزوتية وبذلك يستفاد من الطاقة الشمسية بطريقة بيولوجية في إنتاج الأسمدة الحيوية الأزوتية.

العوامل التي تؤثر علي تثبيت النيتروجين الجوي لاتكافلياً

١-محتوى التربة من النيتروجين

الميكروبات المثبتة للنيتروجين تتمكن من استخدام النشادر أو النترات كمصادر للنيتروجين وتفضلها إذا عجزت عن قيامها بعملية التثبيت، لذلك فتواجد هذه المركبات يعمل على تثبيط عملية تثبيت النيتروجين أو التقليل من حدوثها ومن المتوقع ارتفاع عملية التثبيت في الأراضى التي تتوفر بها النشادر أو تلك المركبات النيتروجينية بتركيزات منخفضة.

٢- العناصر المعدنية

تعتبر العديد من العناصر المعدنية ضرورية لنمو الميكروبات ولكن عددًا قليلاً منها علي وجه الخصوص يشترك في تثبيت النيتروجين الجوي، لذلك يعتبر لا غني عنها أثناء اعتماد الميكروبات علي النيتروجين الغازي في نموها، ويعد الموليبدنم والحديد والكالسيوم والكوبالت من العناصر الأساسية لعملية تثبيت النيتروجين الجوي حيث تحتاج الميكروبات إلي عنصر الموليبدنم الضرورى لعمل إنزيم النيتروجينيز أثناء تمثيلها لغاز النيتروجين، بينما نجد أن هذه الميكروبات تنمو بسرعة كافية في غياب هذا العنصر إذا ما توفرت أملاح النشادر.

وبطريقة مشابهة تشترك أملاح الحديد في عمليات تثبيت النيتروجين الجوي التي تقوم بها ميكروبات *Clostridium* و*Azotobacter* والسيانوبكتريا و*Klebsiella* لأن وجود هذه العناصر يعتبر ضروريا ولو بدرجة أقل لنمو الميكروبات في وجود مركبات النيتروجين، كما يلزم توفر عنصر الكالسيوم للميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي أثناء نموها في وجود مركبات النيتروجين ولكن بكميات أقل منه أثناء قيامها بعملية تثبيت النيتروجين الجوي. وبدرجة مماثلة فإن الميكروبات التي تثبت النيتروجين الجوى يلزم تزويدها بعنصر الكوبالت ، ولقد ثبت أهمية هذا العنصر لنشاط ميكروبات *Clostridium, Beijerinckia, Azotobacter* والعديد من أجناس السيانوبكتريا المثبتة لأزوت الهواء الجوي.

٣- مصادر الطاقة

مصادر الطاقة من العوامل الرئيسية التي تحد من نشاط ومعدل تثبيت النيتروجين الجوي بواسطة الكائنات غير ذاتية التغذية، لهذا فإن إضافة السكريات البسيطة والمخلفات النباتية ذات نسبة C:N واسعة يؤدي عموماً إلي تنشيط هذه العملية تحت أى من الظروف الهوائية أو اللاهوائية لدرجة أن الزيادة في محتوى النيتروجين الكلى يرتبط بكمية المواد الكربونية المضافة ودرجة الحرارة السائدة، ونظراً لأن أنواع الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوى تتنافس مع غيرها من الميكروبات علي مصادر الطاقة فإنه كلما ازدادت كفاءتها في التنافس كلما ارتفعت معدلات الزيادة في محتوي النيتروجين الكلي.

٤- درجة الحموضة

يؤثر الأس الأيدروجيني السائد تأثيرا واضحا علي انتشار الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوى لاتكافلياً، فعلى سبيل المثال تعتبر الأزوتوباكتر من الميكروبات الحساسة بدرجة واضحة للتركيزات المرتفعة من أيون الأيدروجين، وكقاعدة عامة تعتبر الأوساط التي تزيد درجة حموضتها خالية من هذه الميكروبات أو تحتوي علي أعداد ضئيلة جدا من خلاياها، ولو أنه في بعض الأحيان قد تظهر بعض السلالات التي تتحمل درجات أعلى من تركيزات أيون الأيدروجين، أما ميكروبات *Beijerinckia* فهى غير حساسة لدرجات الأس الأيدروجيني كما هو الحال بالنسبة للأزوتوباكتر حيث تتمكن خلاياها من النمو وتثبيت النيتروجين الجوي عند درجات أس أيدروجيني من ٣ -٩، أما بالنسبة للسيانوبكتريا فإنها تنمو ببطء في البيئات المعملية الحمضية وتقع ميكروبات الكلوستريديا بالنسبة لمقاومتها للحموضة بين ميكروبات *Beijerinckia, Azotobacter*.

٥- الحـــرارة

تقل كفاءة عملية تثبيت النيتروجين عند درجات الحرارة المنخفضة بينما يساعد الدفء علي زيادة التثبيت. وتنشط مثل هذه العملية عند درجات الحرارة المعتدلة (٢٥-٣٠°م) ولكنها تتوقف عند ارتفاع الحرارة درجات قليلة عن درجات الحرارة المثلي. ولقد وجد أن عملية تثبيت النيتروجين الجوي تحدث في أراضى بعض المناطق الشمالية الباردة وذلك حتى في فصل الشتاء حيث لا يعزي ذلك في بعض الأراضى الشمالية علي الأقل إلي نشاط الميكروبات غير ذاتية التغذية بل إلي نشاط السيانوبكتريا أو الأشنات التي تعيش فيها بكتريا خضراء مزرقة معيشة تعاونية.

٦- الرطوبة

يقل معدل تثبيت النيتروجين الجوي عند نقص الرطوبة، بينما يزداد المعدل بازدياد الرطوبة وفي بعض الأحيان تصل كفاءة هذه العملية أقصاها عند أو بالقرب من السعة الحقلية وفي أحوال نادرة تحت الظروف الغدقة، والتغير في تثبيت النيتروجين الجوي المصاحب للرطوبة الزائدة يرتبط ارتباطاً شديداً بالتحول من

الظـروف الهوائيــة إلــي اللاهوائيــة حيــث تتــأثر خطـوات هـذا التفاعـل بمـدى تـوفر الأكسجين في الوسط المحيط .

التلقيح بالميكروبات المثبتة للنيتروجين اللاتكافلية

مع انخفاض الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي في الحقول الزراعية مـع الحاجة الزائدة إلي سد العجز في الأسمدة النيتروجينيـة اللازمـة للإنتـاج الزراعـي إلـي تشجيع بعض المحاولات التي أجريت بهدف تشجيع تثبيت النيتروجين الجوي حيويا، فقـد اسـتخدام فـي بعـض الأحيـان لهـذا الغـرض لقاحـات تحتـوى علـي ميكروبـات الأزوتوباكتر أو الأزوسبيريللام أو السيانوبكتريا حيث تضاف إلي التربة أو إلي بذور النباتات لتشجيع هذه العملية، وتبلغ معدلات الزيادة في المحصول حوالى١٠ ٪ ولـو أن هنـاك بعض التقـارير التـي تشـير إلـي حـدوث معدلات أكبـر مـن ذلـك فـي زيـادة المحصول.

ولـو أنــه فـي بعض الأحيـان تتـوفر بعض الأدلـة التـي تشـير إلـي استجابة النباتـات الملقحـة والـذي قد يعزي إلـي أى سـبب أخـر خـلاف زيـادة نيتـروجين التربـة بواسطة الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي والذي يرجح أن يكون نتيجـة أن هذه الميكروبات تفرز مركبات تحد من نمو الكائنات الممرضة في التربة، أو إفرازها لمـواد منشـطة لنمـو النباتـات حيـث وجـد أن مثـل هـذه الميكروبـات تقـوم بـإفراز مركبـات منشطة مثل الجبريللينات والسيتوكينينات وإندول حمض الخليك.

كمــا أن التــأثير الإيجــابي للقــاح البكتيــري قــد يرجــع إلــي مــا أفرزتــه هــذه الميكروبات أثناء خطوات تحضير اللقاح من مواد لا تزال موجودة بـه، وعلـي العكس مـن ذلـك فـإن تنـافس محتويـات اللقـاح مـن البكتريـا غيـر ذاتيـة التغذيـة والمثبتـة للنيتروجين الجوي مع ميكروبات التربة الأخرى علي مصادر الكربون المحدودة فإن السـيانوبكتريا لـديها مصـادر كافيـة مـن الكربـون علـي صـورة CO_2 والضـوء، ونظرًا لتـوفر كـل مـن الضـوء والرطوبـة التـي تحتـاج إليهـا السـيانوبكتريا فـي أراضـى الأرز الغدقة في المناطق الاستوائية فإن التلقيح بمثل هذه الميكروبات قد اجتذب الانتبـاه لاسـتخدامه فـي زيـادة محصـول الأرز فـي الـبلاد الناميـة التـي تفتقـر إلـي الأسـمدة الكيماوية والباهظة التكاليف والملوثة للبيئة.

ثانياً : الميكروبات المثبتة لأزوت الهواء الجوى التكافلية

Symbiotic nitrogen fixers

يقوم عدد كبير من البكتريا وبعض السيانوبكتريا بتثبيت الأزوت الجوي بالاشتراك مع بعض النباتات مثل التكافل بين الريزوبيا والنباتات البقولية، والتكافل بين الريزوبيا وغير البقوليات، والتكافل بين الأكتينوبكتريا والنباتات غير البقولية كما في الكازوارينا وأخيرا التكافل بين السيانوبكتريا والسراخس.

الريزوبيا والنباتات البقولية Rhizobia and legumes plants

تتم عملية تثبيت النيتروجين بواسطة البكتريا العقدية التابعة لجنس *Rhizobium & Bradyrhizobium* داخل العقد الجذرية، حيث تعيش هذه الميكروبات مع النباتات البقولية معيشة تكافلية (تبادل المنفعة)، فالنبات يمد الميكروب بما يحتاجه من المواد العضوية وغير العضوية اللازمة له، بينما تمد الميكروبات النبات بالمواد النيتروجينية، وذلك بأن تثبت نيتروجين الهواء الجوي في النبات. وهذه الميكروبات تعيش حرة في التربة الزراعية ويمكن زراعتها كما سبق القول علي البيئات الصناعية، ولكنها في كلتا الحالتين المذكورتين لا تستطيع أن تثبت النيتروجين الجوي إذ أن تثبيت الأزوت مرتبط بالمعيشة المشتركة للنباتات والميكروبات معا، ورغم ذلك فقد تمكن بعض العلماء أخيراً من تنمية ريزوبيا اللوبيا في بيئة سائلة مناسبة ووسط أكسوجيني مناسب وأمكنها تثبيت النيتروجين وهي علي حالة حرة خارج النبات.

والريزوبيا ميكروب عصوى قصير غير متجرثم سالب لجرام، تنمو على بيئة المانيتول ومستخلص الخميرة، وتتميز بأنها في المزارع الحديثة يكون شكلها عصوى وأحيانا كروى بينما في العقد الجذرية أثناء طور التثبيت وهو طور البكتيرويد تأخذ أشكال غير منتظمة (T,Y,V,X) ولايظهر ذلك على البيئات الصناعية، وتتميز أثناء نموها في العقد بإفراز بعض منشطات النمو مثل مشتقات الإندولات والسيتوكينينات والجبريللينات.

التقسيم الحديث للريزوبيا

طبقا لتقسيم برجي (٢٠٠٥) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology فقد وضعت الريزوبيا في المجلد الثانى

Phylum: Proteobacteria

Class: Alphaproteobacteria

Order: Rhizobiales

Family: Rhizobiaceae

- ***Rhizobium*** -***Allorhizobium***
- ***Sinorhizobium*** -***Agrobacterium***

Family: Bradyrhizobiaceae

- ***Bradyrhizobium***

Family: Phyllobacteriaceae

- ***Phyllobacterium*** -***Mesorhizobium***

Family: Hyphomicrobiaceae

- ***Azorhizobium***

وتمتاز أفراد هذه العائلات بأنها :

عصويات، غير متجرثمة، متحركة، سالبة لجرام، هوائية، وتستعمل الكثير من الكربوهيدرات مع إفراز مواد لزجة خارج الخلية أثناء نموها علي الكربوهيدرات، تسبب نموات غير عادية في خلايا قشرة العائل النباتي، وتكون عقدًا علي جذور النبات العائل أو علي الأوراق.

تقسم ميكروبات هذه العائلات إلي الأجناس التالية:

١-ميكروبات تكون عقدًا علي جذور البقوليات ، تثبيت الأزوت الجوي تكافلياً في العقد الجذرية ، لا تفرز مادة 3-ketolactose ومنها.

أ-جنس *Rhizobium* : وهي بكتريا سريعة النمو علي بيئة أجار مانيتول مستخلص الخميرة، تكون العقد في جذور بقوليات المناطق المعتدلة، عادة تفرز أحماض في البيئة.

ب-جنس *Bradyrhizobium* : وهي بكتريا بطيئة النمو علي بيئة أجار مانيتول مستخلص الخميرة، تكون العقد في جذور بقوليات المناطق الحارة وبعض بقوليات المناطق المعتدلة، عادة تفرز مواد بالبيئة لها تأثير قلوي.

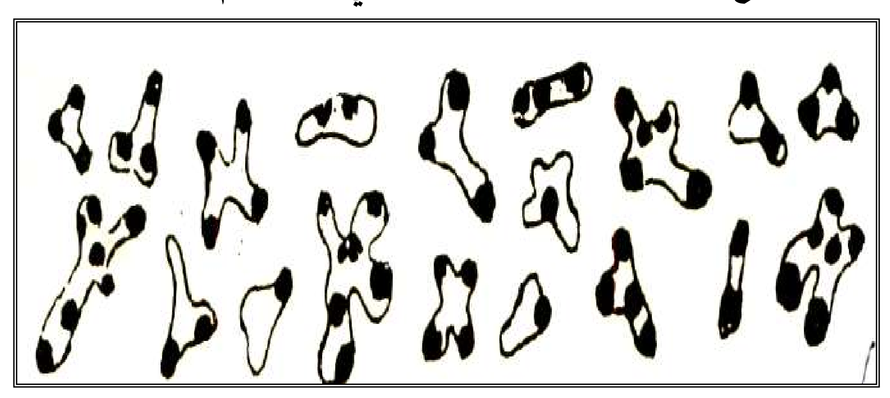
ج-جنس Agrobacterium : لا تكون عقدًا علي جذور البقوليات، ولكنها تسبب تكون نموات غير عادية في كثير من النباتات، لا تثبت الأزوت الجوي.

د-جنس *Phyllobacterium* : تكون عقدًا علي أوراق بعض النباتات التابعة لعائلة Myrsinaceae & Rubiaceae ولكن لم يثبت انها تثبت أزوت الهواء الجوى إلى الأن، وأهم أجناس الريزوبيا المثبتة للنيتروجين الجوى:

Rhizobium, Bradyrhizobium, Mesorhizobium,

Allorhizobium, Sinorhizobium, Azorhizobium,

ونظراً لأن الريزوبيا مع ميكروبات أخرى عديدة تشبهها في الصفات ، فإنه من الصعب عدها في التربة أو بالزراعة علي البيئات مباشرة، لذلك قد يستخدم فى عد الريزوبيا طريقة جداول العد التقريبية (MPN) في بيئات سائلة بحيث تلقح أنابيب البيئات بالتخفيفات المناسبة ثم يوضع فيها بذور النبات البقولى، وبعد الإنبات بعدة أسابيع يفحص النبات لوجود العقد علي الجذور ثم تقدر الأعداد.



شكل ٢(٢)٦: بكتيرويدات من عقد جذرية لنبات البسلة

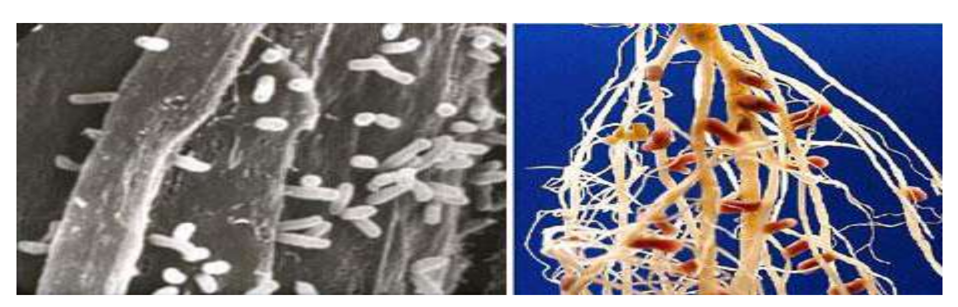
ويمكن تقسيم البكتريا المعزولة علي أساس نموها علي بيئة مستخلص الخميرة والمانيتول إلي:

١- جنس *Rhizobium*

ميكروبات سريعة النمو Fast growing (مثل بكتريا مجموعة البرسيم الحجازى) ومتوسط عمر الجيل بها حوالى ٤ ساعات، ويصل أقصى نمو بعد ٤٠-٧٠ ساعة وأفراد هذه المجموعة تزيد من حموضة البيئة بعد نموها.

٢- جنس *Bradyrhizobium*

ميكروبات بطيئة النمو Slow growing مثل بكتريا مجموعة اللوبيا (Cowpea Bradyrhizobia) ومتوسط عمر الجيل بها حوالى ١٠ ساعات من (٦-١٢ ساعة) ، ويصل أقصى نمو بعد ١٠٠-١٩٠ ساعة، وهي تزيد من قلوية البيئة بعد النمو بها، وتمتاز أفرادها بأن فلاجلاتها طرفية.



شكل ٢(٢)٧: جذر نبات بقولي وعليه عقد بكتيرية

والبكتريا العقدية تتشابه عادة مع جنس الأجروباكتريوم *Agrobacterium* في كثير من الصفات، إلا أنهما يختلفان قليلا في بعض الصفات المزرعية، فمثلاً تحتاج البكتريا العقدية إلي فيتامينات وعوامل نمو في البيئة بينما تستطيع الأجروباكتريوم النمو في بيئة بسيطة تحتوى علي أمونيا كمصدر وحيد للنيتروجين. إلا أن الطريقة الأساسية في تميزهما عن بعضهما هي قدرة جنس *Rhizobium & Bradyrhizobium* علي تكوين العقد الجذرية علي النباتات البقولية وعدم قدرة جنس *Agrobacterium* علي ذلك وكذلك اختبارات إنزيم النيتروجينيز.

التخصص في البكتريا العقدية

البكتريا المسببة للعقد الجذرية للنباتات البقولية تشتمل علي أنواعاً عديدة، وتختلف الأنواع حسب نوع النبات العائل الذي يصيبه، فلكل نبات بقولى أو مجموعة من النباتات البقولية نوع يكون العقد عليه أما باقى الأنواع فإنها غير قادرة علي غزو هذا النبات، أو قد يغزوه ولكنها تكون عقدًا ضعيفة غير قادرة علي تثبيت النيتروجين، وتسمي مجموعة النباتات البقولية التي يغزوها نوع واحد من البكتريا العقدية باسم مجموعة تبادلية التلقيح Cross inoculation group ، فمثلا هناك مجموعة البسلة Pea group ، وتضم البسلة والفول العادى والعدس، والنوع المكون للعقد البكتيرية علي جذور هذه المجموعة هو *Rhizobium leguminosarum* ، وبالمثل هناك مجموعة البرسيم الحجازي ويغزوها ميكروب *Sinorhizobium meliloti* ومجموعة البرسيم العادى ويغزوها *R. trifolii* ، حيث قسمت النباتات البقولية إلي سبع مجموعات وبالتالى قسمت البكتريا العقدية إلي سبع أنواع. وبالرغم من أن النوع الواحد من البكتريا العقدية يغزو جميع أنواع النباتات البقولية التابعة لمجموعته التبادلية، إلا أن هناك سلالات بكتيرية تكون أكفأ في تكوين العقد وتثبيت النيتروجين علي نبات معين في داخل المجموعة من النباتات الأخرى، وحتى النوع الواحد من النباتات البقولية قد يغزوه عدة سلالات تختلف في كفاءتها في تثبيت النيتروجين فبعضها ذو كفاءة عالية وبعضها متوسط وبعضها ضعيف.

ويجب أن نلاحظ أن أنواع البكتريا العقدية الرئيسية لا يمكن تمييزها عن بعضها بسهولة بالصفات المورفولوجية أو المزرعية أو الفسيولوجية، وأن الطريقة الوحيدة لتمييز أنواع البكتريا العقدية هي اختبار قدرتها علي تكوين العقد علي مختلف أنواع النباتات البقولية، وقد وجد أن بروتينات كل مجموعة متشابهة وذلك عندما اختبرت سيرولوجياً بطريقة الترسيب، ويجرى الأن التمييز بين الأنواع السيرولوجية باستخدام طريقة التجمع Agglutination وذلك بإضافة سيروم مضاد Antiserum من سلالات معروفة إلي خلايا البكتيرويد المفصولة من العقد.

والجدول التالي يوضح هذه الأقسام.

المجموعات النباتية وأنواع البكتريا المتخصصة في إصابتها

اسم المجموعة	نوع البكتريا	النباتات التي تضمها المجموعة
أ) سريعة النمو مجموعة البرسيم الحجازى Alfalfa group	*Sinorhizobium meliloti*	-البرسيم الحجازى، الحلبة، النفل، الحندقوق
مجموعة البرسيم Clover group	*Rh. trifolii*	-البرسيم المصري، البرسيم الأحمر، البرسيم القرمزي
مجموعة البسلة Pea group	*Rh. leguminosarum*	-البسلة، بسلة الزهور، العدس، الفول العادي
مجموعة الفاصوليا Bean group	*Rh. phaseoli*	-الفاصوليا
ب) بطيئة النمو مجموعة الترمس Lupine group	*Br. lupini*	-الترمس
مجموعة فول الصويا Soybean group	*Br. japonicum*	-فول الصويا
مجموعة اللوبيا Cowpea group	*Bradyrhizobium* sp.	-اللوبيا، فول السوداني، فاصوليا الليما، اللبلاب

مراحل تكوين العقدة البكتيرية Stages of nodule formation

تبدأ عملية تكوين العقدة البكتيرية بعد إنبات البذرة مباشرة، حيث تفرز جذور النبات إفرازات تشجع نمو الميكروبات حوله وتشجع البكتريا العقدية الموجودة في التربة حول الجذور وتتكاثر حوله، فإذا كانت من النوع المتخصص لهذا النبات فإنها تلتصق بالجذور، ولقد أثبتت الدراسات أن البكتريا العقدية يوجد علي سطحها نوع من السكريات المعقدة متخصصة لنوع النبات البقولى الذي تغزوه، فإذا كانت البكتريا العقدية من النوع المتخصص للنبات المزروع فإنها تلتصق به بواسطة السكريات المعقدة المتخصصة، أما إذا لم يكن من النوع المتخصص للمجموعة النباتية التي يتبعها النبات المزروع فإن الالتصاق لا يتم أو يكون ضعيفاً، وبعد الالتصاق تبدأ عملية الغزو.

أليات غزو الريزوبيا للشعيرة الجذرية

١- يساعد على انحناء الشعيرة الجذرية وغزو طرفها بالبكتريا المتخصصة ما تفرزه بذور النبات العائل أثناء نموها في حالات كثيرة من مواد تسمي **Lectins** (ليكتينات)، وهي عبارة عن مواد بروتينية ذات قابلية متخصصة للارتباط بالسكريات المعقدة الموجودة علي سطوح البكتريا العقدية، وفي حالة البكتريا العقدية فإنه يحدث تجاذب بين السكريات التي علي سطحها وبين الليكتينات المنتشرة علي سطوح جذور النبات البقولى (أو الشعيرة الجذرية)، وبذلك تلتصق البكتريا بجذر عائلها المتخصص له دون غيره، وعلي هذا فإن ليكتين البرسيم العادى والمسمى **Trifoliin** متخصص للاتحاد مع الريزوبيا ***Rh.trifolii*** ولصقها بجذور البرسيم، ويهمنا أن نوضح أن السكريات التي تفرزها الريزوبيا متعددة منها سكريات العلبة **Capsular polysaccharides** وأهم مكوناتها الجلوكوز والجلاكتوز والفراكتوز والمانوز وأحماض الجلكورونيك والجلاكتورونيك، ومنها سكريات ليبيدية تحتوى علي سكريات وأحماض نووية متحدة مع ليبيدات وتتميز باحتوائها علي **Uronic acid, Rhamnose, Methylated 6-deoxyhexose, Methylated hexose**

amine, Ethylated heptose ، بالإضافة إلي ما تفرزه خلية الريزوبيا من وحدات ذات أوزان جزيئية صغيرة من الجلوكان.

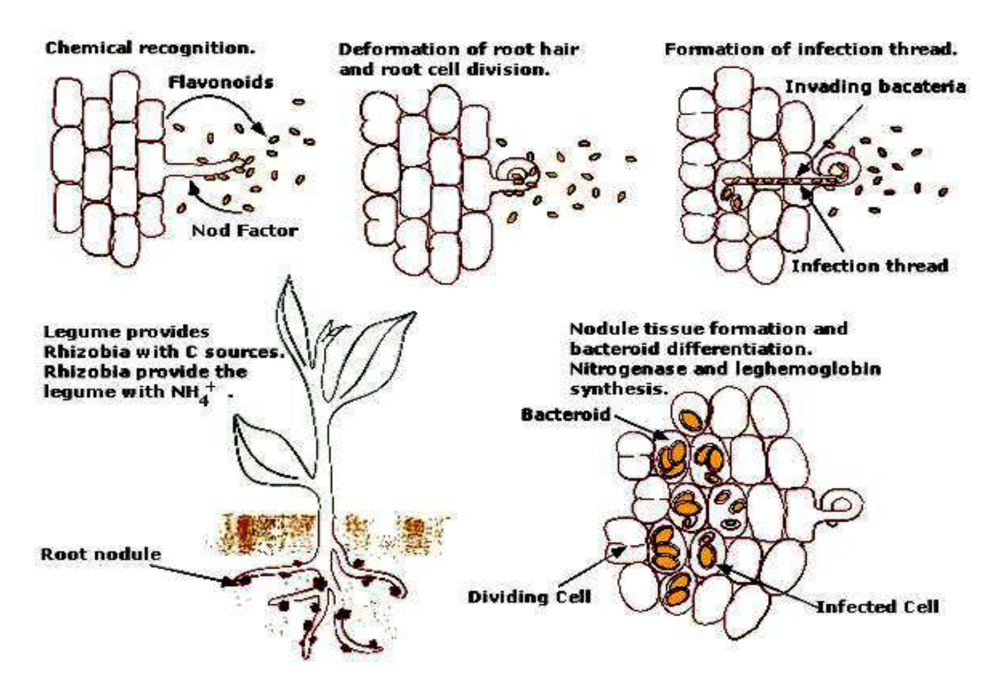
٢- يساعد أيضا علي غزو الميكروب المتخصص للعائل، ما تفرزه جذور العائل من إنزيم Polygalacturonase، ويفرز هذا الإنزيم في رأى بعض الباحثين نتيجة لحث البكتريا المتخصصة المهاجمة بما تحويه من سكريات معقدة في جدارها الخارجي.

٣- ويساعد أيضا في عملية الغزو، ما تفرزه القمة النامية لطرف الشعيرة الجذرية عند مكان الإصابة من مادة سكرية تسمي كالوز Callose وهي $\beta-1,3$ glucan هذه المادة تفرزها جذور النباتات الحديثة النمو بتأثير البكتريا العقدية المتخصصة بما تفرزه من مادة الإندول أسيتيك أسيد، وهذه المادة (الكالوز) تختفي في الجذور المسنة، ويمكن تقسيم الأطوار التي توجد بها البكتريا العقدية في النبات إلي ثلاثة كالأتي:

الطور الأول Controlled parasite

غزو الميكروب للجذور : يبدأ تكوين العقدة مع تكوين الأوراق الأولى للنبات، وقد دلت الأبحاث علي أنه في هذا الوقت تفرز جذور النبات مواد تعمل علي تكاثر البكتريا المحيطة بها، وبذلك يتكون بالقرب من الشعيرة الجذرية مجموعة كبيرة من بكتريا العقد الجذرية، حيث تفرز بدورها مادة منشطة للنمو مثل أندول حمض الخليك الذي تمثله البكتريا بالأكسدة من مادة التربتوفان المفرزة من الجذور ، وهذه تسبب نمو الشعيرة الجذرية وانحناءها فتغزو هذه الميكروبات طرف الشعيرات الجذرية من منطقة الانحناء لأنها أضعف نقطة في الشعيرة.

وقد وجد أنه إذا كان الميكروب هو من نفس النوع الذي يصيب النبات فإنه يحدث هذا الانحناء ويكون العقدة، أما إذا كان من نوع أخر فإنه يحدث الانحناء فقط ولا يكون العقدة، بمعني أن الميكروب المختص بإصابة جذور الفول مثلا يحدث الانحناء والعقدة في نبات الفول فقط، ولكنه يحدث الانحناء فقط في نبات البرسيم،

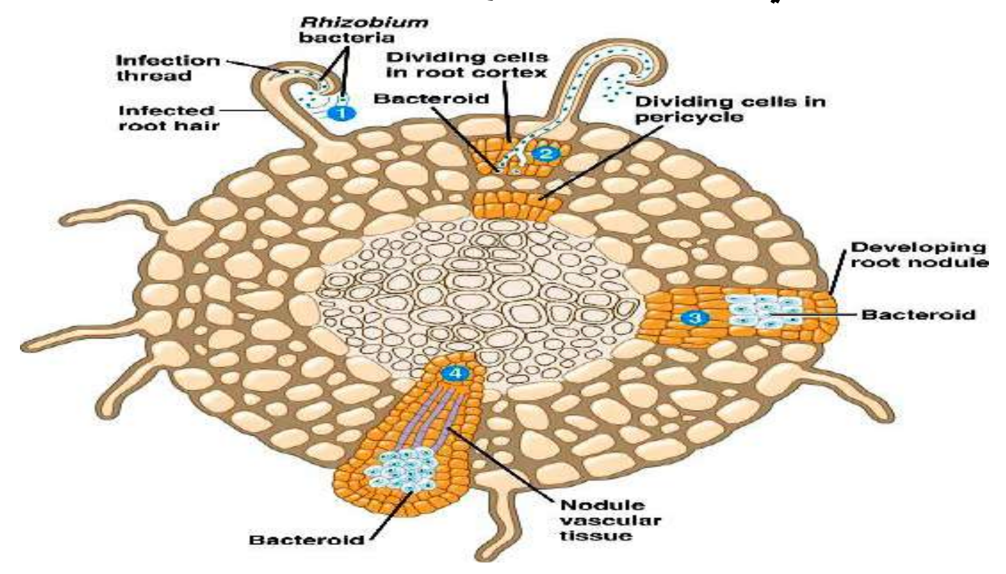


شكل ٢(٢)٨: مراحل غزو الريزوبيا لجذر النبات

ثم يبدأ في تكوين خيط العدوى Infection thread بعد الإصابة، وهو مكون من البكتريا محاطة بأنبوبة مكونة من السليولوز وهيميسليولوز وبكتين وهذه الأنبوبة يكونها النبات المصاب، يستمر خيط العدوى في نموه بمتوسط سرعة حوالى ٧ ميكروميتر/ساعة، وهو معدل يعادل سرعة نمو الشعيرة الجذرية نفسها. ويختلف خيط العدوي في السمك باختلاف النبات العائل، ولكنه يزداد دقة كلما كان الجذر رفيعا، ويستمر في النمو مستقيماً وينحني فقط ليتبع انحناء جدار الشعيرة الجذرية. وفي المعتاد يتكون خيط عدوى واحد داخل الشعيرة الجذرية، ولكن قد يتكون أحياناً خيطين ونادرا ما يتكون ثلاثة خيوط.

يستمر خيط العدوي في النمو في الشعيرة الجذرية حتى يصل إلي خلايا القشرة للجذر فيخترقها، ثم يتفرع خيط العدوي ويغزو خلايا أخرى ويختفي الخيط وتتجمع خلايا البكتريا حول أنوية خلايا قشرة الجذر، تنشط الخلايا المصابة وتنقسم حاملة خلايا البكتريا الجديدة، وتتكون العقدة من الانقسام الغزير لخلايا النبات ومن تضخم هذه الخلايا أيضاً، كما أن خلايا النبات المجاورة للخلايا المصابة ينتابها كبر في الحجم ونشاط في الانقسام أيضاً، ويعلل انقسام الخلايا المجاورة المذكورة إلي أن

خلايا البكتريا أيضا تفرز هرمون Heteroauxin ينتشر إليها فيسبب هذا النشاط ويؤيد ذلك أن العقدة وجدت غنية بهذا الهرمون، ويلاحظ بأنه إذا ما دخلت إحدى سلالات الريزوبيا إلي داخل النبات فأنها تمنع دخول السلالات الأخرى.

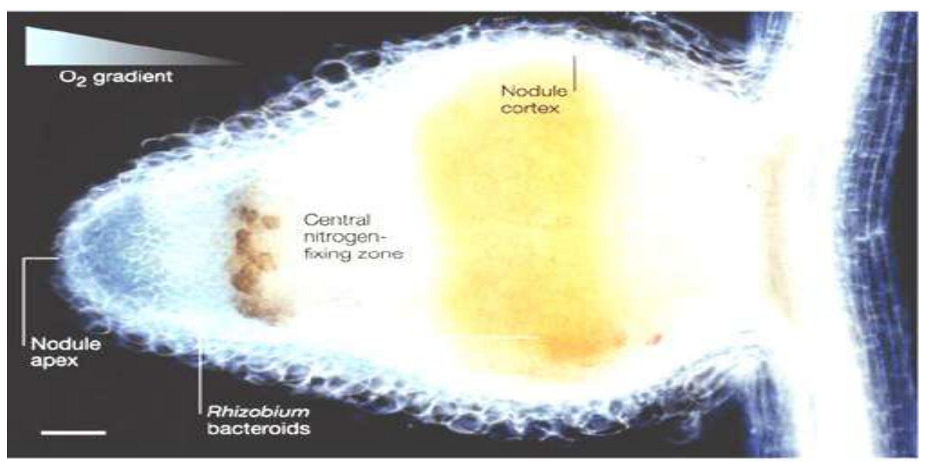


شكل ٢(٢)٩: قطاع في جذر نبات بقولى ومراحل تكوين العقدة

وعندما تتكون العقدة تظهر الحزم الوعائية الثانوية في المحيط الخارجي للعقدة التي تتصل بالحزم الوعائية الأصلية للجذر، وخلال هذه الأوعية تنتقل المواد العضوية وغير العضوية إلي العقدة، كذا تنتقل منها المواد التالفة الناتجة من تمثيل الميكروبات للأغذية وأيضاً ينتقل خلالها النيتروجين الممثل في العقدة إلي النبات.

ويلاحظ أن نصف العقدة يوجد به الميكروبات، أما النصف الأخر فخالي منها ويسمي النصف العقيم، وشكل الميكروبات في العقدة الحديثة السن تقريباً عصوي، ولكن في العقدة الناضجة توجد البكتريا علي هيئة حروف مثل T, L, Y, X, V وغيرها، ويسمي هذا الطور Bacteroids ، وعند صبغها وفحصها ميكروسكوبيا يشاهد أنها لا تصبغ بانتظام إذ يلاحظ وجود مناطق بيضاء خالية من الصبغة، ولقد وجد أنها تتكون من Poly β-hydroxybutyrate ، وتتم عملية تثبيت النيتروجين الجوي في طور البكتيرويد لأن الخلايا البكتيرية في هذا الطور تحتوى علي الإنزيم المثبت للنيتروجين وهو إنزيم النيتروجينيز.

وشكل وحجم العقدة يختلف باختلاف العائل والوسط وطريقة أدائها لوظيفتها، وعموماً فمن حيث الشكل فإنه يوجد شكلين للعقدة، الكروية كما في نبات Desmodium والمستطيلة كالموجودة في نبات البرسيم، وهي عقدة لها قمة نامية تستطيل طوليا وقد يحدث لها تفرعات جانبية.



شكل ٢(٢)١٠: شكل يوضح العقدة فى مرحلة البكتيرويد

الطور الثاني: تبادل المنفعة Symbiosis

وفيه تظهر المعيشة التكافلية أو معيشة "تبادل المنفعة" Symbiosis حيث تمد البكتريا النبات بالمواد النيتروجينية المثبتة، ويمد النباتات البكتريا بالمواد الكربوهيدراتية، وتمكث البكتريا داخل العقدة الجذرية في طور Bacteroids مدة سبع أسابيع تقريبا، وتحول الريزوبيا إلي طور البكتيرويد يكون مصحوبا بتكون مادة شبيهة بالهيموجلوبين بالعقدة تسمي Leghaemoglobin ، بينما تتحكم جينات الريزوبيا في تكوين النظام الخاص بتثبيت النيتروجين.

وهذه المادة من أنواع الهيموبروتين وتتكون فقط في العقد الجذرية المحتوية علي بكتيرويد، وتكتسب العقدة الجذرية النشطة لونا أحمر وردى بسبب احتوائها علي هذه الصبغة المحتوية علي الحديد، ولقد وجد أن كمية اللجهيموجلوبين في العقدة الجذرية ترتبط ارتباطا موجبا بكمية النيتروجين المثبتة، ونظرا لأنه يمكن تقدير اللجهيموجلوبين بطرق ضوئية Optical density ، فإنه يفضل استخدام هذه الطريقة علي طرق استخدام الوزن الطازج للعقد البكتيرية كدليل جيد للقدرة علي

تثبيت الأزوت وذلك عند مقارنة نباتات ذات أعمار متساوية، وإذا كانت الميكروبات غير متخصصة لنوع النبات، فإن العقدة تمكث ٧ – ١٠ أيام ولا يتكون في هذه الحالة اللجهيموجلوبين Leghaemoglobin ، وربما يشاهد نوعي العقد المذكورين علي النبات الواحد، وتسمي العقدة المتكونة من سلالة غير متخصصة أو غير فعالة Uneffective strain بالعقدة الكاذبة Pseudo-nodule ، وقد تتكون أحياناً عقد ضعيفة هزيلة ولكنها صادقة ويرجع ذلك إلي:

١-كثرة النترات في التربة: حيث يتكون نموا خضريا كبيرا وتتجه كل الكربوهيدرات الناتجة عن التمثيل الكربوني للنبات إلي تكوين النمو الخضري بدلا من أن تصل للبكتريا لإمدادها بالطاقة اللازمة.

٢-عدم وجود إضاءة كافية الأمر الذي يسبب قلة ورود الكربوهيدرات إلي العقد الجذرية نتيجة لضعف التمثيل الكربوني.

٣-عدم وجود كمية كافية من المعادن النادرة الضرورية لعملية التثبيت مثل البورون والموليبدنم.

الطور الثالث Uncontrolled parasite

بعد حوالى سبعة أسابيع من تكوين العقدة البكتيرية يتحول الميكروب من معيشة تبادل المنفعة إلي متطفل بعد أن تقل المواد الغذائية الواصلة إلي العقدة، فيفرز الميكروب إنزيم البكتينيز Pectinase الذي يذيب الصفيحة الوسطى للخلايا البرانشيمية التي يسكن فيها وتتفجر العقدة بعد ذلك، ويخرج الميكروب إلي التربة الزراعية، وفي رأى أخر أنه في وقت الإزهار أو بعده بقليل تصل درجة تركيز هرمون (الأوكسين Auxin) إلي قمته، وعندئذ تتحلل العقدة ويصبح لونها أخضر أو بنى وتختفي البكتيرويدات Bacteroids ثم تنفصل بقايا العقدة بطبقة من الفلين بعدها تتأكل وتتحلل.

العلاقة الفسيولوجية بين الريزوبيا والنبات العائل

إذا كانت الظروف البيئية المحيطة بالنبات البقولى العائل (المتكافل الكبير Macrosymbiont) والبكتريا المثبتة (المتكافل الصغير Microsymbiont) مناسبة فإن عملية تثبيت النيتروجين تعاونياً تتوقف علي العلاقة ما بين البكتريا والعائل.

١) فالريزوبيا في طور البكتيرويد تحتوى علي إنزيم النيتروجينيز اللازم لاختزال النيتروجين إلي أمونيا.

٢) كما تحتوي البكتيرويد علي بعض الإنزيمات مثل Glutamine synthetase الخاصة بالقيام بالخطوات الأولى لتحويل الأمونيا إلي أحماض أمينية كالجلوتاميك.

٣) ولكى يتم ذلك فإن العائل يمد البكتريا بما تحتاجه من مصادر كربونية (كالسكريات والأحماض العضوية) اللازمة للتمثيل ولإنتاج الـ ATP.

٤) كما أن الأكسجين يدخل إلي الأنسجة الجذرية بكميات كافية لحفظ خلايا العائل والبكتيرويد دون أن يثبط من نشاط النيتروجينيز، وينظم هذه الاحتياجات لجهيموجلوبين العقدة.

٥) كما أن نواتج تثبيت الأزوت تنتقل عن طريق الحزم الوعائية الثانوية من العقدة إلي مراكز تكوين البروتين في النبات العائل وبذلك لا تتجمع الأمونيا بالعقدة التي تعتبر مادة مثبطة لإنزيم النيتروجينيز.

المواد المنتجة للطاقة والناقلة للإلكترونات بالعقدة

يقوم البنات العائل عن طريق التمثيل الضوئى بتوفير المواد المولدة للطاقة مثل السكريات والأحماض العضوية الذاهبة إلي العقدة البكتيرية، وتمثل هذه المواد عن طريق دورة حمض الستريك لإنتاج الطاقة اللازمة، وأهم المواد المخزنة داخل أغلب العقد البكتيرية هي مادتي الجليكوجين والـ Poly β–hyrdoxy butyrate ، والمادة الأخيرة تصل نسبتها بالعقدة إلي حوالى ٥٠٪ من وزنها الجاف، وتكوين هذه المادة يناسبه الإمداد المحدود من الأكسجين الذي يصل إلي أنسجة العقدة، ويبدو أن

هذه المواد تمثل بالعقدة كمصادر للطاقة وقت الحاجة، أما من حيث المواد الناقلة للإلكترونات بالعقدة فإن بكتريا العقدة تحتوى علي سيتوكروم وفلافوبروتين Cytochrome & Flavoprotein وهذه المواد تعمل علي نقل الإلكترونات إلي إنزيم النيتروجينيز وذلك لاختزال الآزوت وتحويله إلى أمونيا.

الاحتياج الأكسجيني لبكتريا العقدة ودور اللجهيموجلوبين

الأكسجين ضرورى لكى تقوم كل من خلايا العائل والبكتريا بنشاطها، وتزيد كمية النيتروجين المثبتة بالعقدة بزيادة تنفس الخلايا، إذ أن عملية التثبيت تحتاج إلي ATP الناتج من هذا التنفس الهوائى، غير أن زيادة تركيز الأكسجين بالعقدة إلي مستواه بالهواء الجوي يعتبر مثبطاً لعملية التثبيت حيث أن إنزيم النيتروجينيز حساس له وينظم تركيز الأكسجين داخل العقدة مادة Leghemoglobin الموجودة بها، إذ أن لها قابلية كبيرة للارتباط بالأكسجين وعند زيادة ضغط الأكسجين داخل العقدة تحدث زيادة في اللجهيموجلوبين المؤكسد Oxygenated leghemoglobin وهذا يفسر قلة تركيز الأكسجين في خلايا العقدة رغم زيادته خارجها. وبتشابه لجهيموجلوبين العقدة في نواحي كثيرة مع هيموجلوبين وميوجلوبين الثدييات في كونه منظما لحركة الأكسجين بالعقدة بارتباطه به أو تحرره منه، ويثبط عمله وجود CO_2 الذي يمنع ارتباطه بالأكسجين وبالتالى من عملية التثبيت، وأثبتت الدراسات السيتوكيميائية أن هيموجلوبين العقدة يوجد في الأغلفة الغشائية المحيطة بالبكتيرويد أى يوجد خارج البكتريا بين الخلايا الميكروبية وجدار النبات المحيط بالعقدة وبذلك يصبح ملامساً لأسطح تلك البكتريا مما يزيد من كفاءته المتعلقة بتنظيم احتياج البكتيرويد للأكسجين وموفرا في نفس الوقت الحماية اللازمة لإنزيم النيتروجينيز من الأكسجين.

أهمية العقد الجذرية

تقوم بكتريا العقد الجذرية بتثبيت نيتروجين الهواء الجوي وهي مهمة للنباتات منذ بدء حياتها إلي قرب حصادها، حيث أنها تمد النبات بما يحتاجه من نيتروجين فتعطي النباتات بالتالى غلة كبيرة بدون تسميد نيتروجيني، وكذا تمد

التربة بكمية كبيرة من النيتروجين، والبكتريا لا يمكنها تثبيت النيتروجين بمفردها ولكن لابد من وجود النبات للقيام بعملية تثبيت الأزوت، وبالنسبة لوجود هذه البكتريا في العقد علي جذور النباتات البقولية نجد أن هذه النباتات غنية بالنيتروجين، فمثلا نرى أن ١ طن دريس من البرسيم الحجازى يحتوى علي ١٣٠-١٥٥ كجم بروتين، بينما ١ طن من الحشائش أو تبن شعير أو قمح يحتوي علي ٥٠-٦٥ كجم بروتين حيث ويتضح مما تقدم أن البقوليات غنية بالبروتينات.

أيضاً مقدار ما يثبت من نيتروجين الهواء الجوي بالنسبة لهذه النباتات يختلف باختلاف نوع النبات، فنجد أن محاصيل المراعي مثل البرسيم الحجازي تثبت كمية من النيتروجين تفوق كثيرا ما تثبته محاصيل البذور مثل الفول والبسلة وفول الصويا، أما مقدار ما تستفيده التربة من النيتروجين المثبت بواسطة النباتات البقولية فإنه يختلف باختلاف طريقة الحصاد، فإذا حرث المحصول في الأرض كسماد أخضر فإن التربة تستفيد من كل النيتروجين المثبت، أما إذا أكلته الحيوانات أو حول إلى سيلاج وأكلته الحيوانات فإن السماد الناتج من هذه الحيوانات لو أضيف كله للتربة فإن نسبة النيتروجين المثبت التي تصل إلى التربة تكون ٥٠٪ أو أكثر قليلا، أما إذا أزيل المحصول بعيدا عن التربة فإن مقدار مايصل إلى التربة من النيتروجين المثبت يكون بمقدار ما يتبقى من محصول في التربة، وإذا كان المجموع الجذرى كبير ومكث في الأرض بعد الحصاد فإن مايتبقى منه بعد الحصاد قد يساوى ثلث مايحتويه النبات من النيتروجين المثبت.

الريزوبيا المكونة لعقد علي الساق Stem nodulating rhizobia

أول من لاحظ تكون عقد بكتيرية علي سوق البقوليات، لها القدرة علي تثبيت الأزوت الجوي هو العالم الهولندي (Hagerup) عام ١٩٢٨ ، حيث لاحظ تكون هذه العقد علي النبات البقولي *Aeschynomene aspera* ، وهو نبات بقولي ينمو في المياه الضحلة بنهر النيجر، وفي عام ١٩٨١م تمكن (Dreyfus & Dommergues) من إثبات وجود عقد بكتيرية من الريزوبيا مثبتة للأزوت علي كل من جذر وساق النبات البقولي *Sesbania rostorata* النامي في أراضي السنغال، وهو نبات حولي استوائي سريع النمو، حيث يصل طوله لمسافة ٣-٥ م في خلال ٤

شهور، وبذلك فان هذا النبات يحتوي علي عقد بكتيرية تزيد بمقدار ٥-١٠ أضعاف ما تحتويه النباتات البقولية الأخري التي لا تكون عقداً علي الساق، ويمكن لهذا النبات إذا ما توفرت الظروف البيئية والمناخية المناسبة من أن يثبت حوالي ١٠٠كجم أزوت / فدان في شهرين، ولذلك فأنه في تلك البلاد يستعمل كسماد اخضر قبل زراعة الأرز في الأراضي الغدقة الفقيرة في محتواها الأزوتي، وحتي الأن فإن المعلومات المتوفرة الخاصة بتكون عقد بكتيرية من الريزوبيا علي سوق البقوليات تشير إلي وجودها في ثلاثة أجناس هي ***Sesbania, Neptuna & Aeschynomene*** وجميعها لها القدرة علي النمو في الأراضي الغدقة، وتقسم الريزوبيا التي تكون عقداً علي الساق حسب العائل الذي تتعايش معه إلي:

I. *Sesbania rostorata* group

وهي من النوع السريع النمو (عمر الجيل ٣ ساعة) وإن كان لها بعض الصفات الفسيولوجية لريزوبيا اللوبيا ***R. cowpea*** .

2. *Neptuna* group

وهي من النوع السريع النمو أيضا وتشبه في صفاتها ***R. meliloti*** .

3. *Aeschynomene* group

وهذه المجموعة يتبعها عدة سلالات منها السريع النمو ومنها البطئ (عمر الجيل ١٠ ساعات)، ونظرا لأن ريزوبيا عقد الساق توجد في أماكن قريبة من أماكن عملية التمثيل الضوئي للنبات فإن ريزوبيا الساق تمتاز عن ريزوبيا الجذور في أن نظامها الإنزيمي من النيتروجينيز يستطيع أن يثبت الأزوت الجوي حتي في وجود تركيزات مرتفعة نسبياً من الأكسجين حول العقدة أو النيتروجين في التربة وهذا يوضح أنه تحت تلك الظروف فإن لعقد الساق قدرة أكبر علي التثبيت من عقد الجذور.

العوامل التي تؤثر علي تثبيت النيتروجين الجوي تكافلياً

يتوقف مقدار النيتروجين الجوي الذي تثبته البكتريا العقدية بالاشتراك مع النباتات البقولية علي عوامل كثيرة بعضها يتعلق بالتربة وبعضها يتعلق بكل من النبات البقولي والبكتريا العقدية، أما فيما يتعلق بالتربة فقد وجد أن هناك علاقة وثيقة بين تأثير بعض العوامل مثل التهوية ودرجة الحرارة ونسبة الرطوبة والملوحة والرقم الأيدروجيني علي نمو النباتات البقولية ومقدار ما تثبته من النيتروجين الجوي، وبوجه عام يمكن القول أن العوامل التي تزيد من نمو البقوليات تساعد أيضاً علي تكوين العقد الجذرية وتثبيت النيتروجين الجوي، وتزيد من مقدرتها علي تثبيت النيتروجين الجوي، فمثلا تجود معظم النباتات البقولية عندما يكون الرقم الأيدروجيني للتربة قريبا من التعادل وعلي هذه الدرجة تصل نسبة النيتروجين المثبت إلي حدها الأقصي، كما أن النباتات البقولية التي يلاءم نموها الوسط الحمضي فأنه يصل أقصي ما تثبته من نيتروجين عند هذه الدرجة من الحموضة، كما وجد أن العقد البكتيرية حساسة للجفاف الزائد وللملوحة وللحرارة المرتفعة وللرطوبة الزائدة والغمر التي تؤدي إلي نقص الأكسجين كما في الأراضي الغدقة، كما أنها حساسة لبعض الآفات ويرقات الحشرات والبكتريوفاج، ومن العوامل المشجعة لها وجود فطر الميكوريزا التي تساعد علي توفير الفوسفور لبكتريا العقد الجذرية.

وللعناصر الغذائية التي توجد في التربة أو التي قد تضاف إليها تأثير واضح علي عملية تثبيت النيتروجين فقد أظهرت تجارب الحقل أن إضافة المركبات الكيميائية مثل الكالسيوم والمنجنيز والفوسفات والبوتاسيوم تنشط تكوين العقد الجذرية وتزيد في قدرتها علي تثبيت النيتروجين الجوي وان كان لم يعرف بعد حقيقة الدور الذي تلعبه في ميكانيكية عملية التثبيت، أما الكالسيوم فأنه مطلوب خاصة في المراحل الأولي من العدوي بالريزوبيا، حيث يدخل في نشاط الإنزيمات المحللة للبكتين التي تساعد ميكروب الريزوبيا علي اختراق الشعيرة الجذرية.

ولقد وجد أن إضافة الجير إلي التربة الفقيرة فيه ضروري للحصول علي محصول وافر وكمية كبيرة من النيتروجين المثبت، ولما كان الجير يضاف إلي التربة عادة علي صورة كربونات الكالسيوم، فقد عزي البعض التأثير النافع للكالسيوم إلي

أن كربونات الكالسيوم تجعل الوسط الذي تنمو فيه النباتات متعادل، ولكن التجارب التي أجريت أخيرا أثبتت أن التأثير يعود إلي عنصر الكالسيوم نفسه، فقد أمكن الحصول علي نسبة عالية من الأزوت المثبت بواسطة نبات فول الصويا المنزرع في تربة حمضية عندما أضيف إلي التربة كمية مناسبة من الكالسيوم، أما المنجنيز فقد وجد أنه يلعب دورا هاماً في تكوين العقد الجذرية وقدرتها علي تثبيت النيتروجين بواسطة نبات فول الصويا، وقد عزي البعض تأثيره إلي أن وجوده يساعد علي الاستفادة من الكالسيوم، كما وجد أن الفوسفات تزيد من نمو المحاصيل البقولية، كما تزيد قدرتها علي تثبيت النيتروجين، أما البوتاسيوم فيساعد علي تثبيت النيتروجين عن طريق تأثيره علي زيادة تكوين الكربوهيدرات في النباتات ولبعض العناصر النادرة Trace elements تأثير واضح علي مقدار ما تثبته النباتات البقولية من نيتروجين، فقد لوحظ أن النباتات المكونة للعقد البكتيرية تحتاج إلي كمية أكبر من العناصر النادرة والفوسفور والبوتاسيوم عن نفس النباتات غير المكونة للعقد.

لعنصر الموليبدنم أهمية خاصة في عملية التثبيت نفسها، فبالإضافة إلي أنه يدخل في تركيب إنزيم النيتروجينيز، فأنه يوجد أيضاً في إنزيم Nitrate reductase الذي يوجد في بكتيرويد بعض العقد، وغياب هذا المعدن لا يؤثر علي نمو النبات ولا يمنع تكوين العقدة الجذرية ولكنه يؤثر علي كفاءتها فيفقدها قدرتها علي التثبيت، أما البورون فقد ظهر أن وجوده ضرورة لتكوين العقدة الجذرية.

وقد لوحظ أن عنصر الكوبالت ضروري لعملية تثبيت النيتروجين تكافليا، إذ أن البكتريا العقدية تحتاج إلي هذا العنصر لدخوله في تركيب Vitamin B_{12} Co-enzyme الذي يدخل في نشاط إنزيمات Nucleotide reductase & Methylmalonyl mutase التي تلعب دورا أثناء تكوين العقدة وأثناء عملية التثبيت.

ويعتبر مستوي النيتروجين المعدني (الأمونيا والنترات) من العوامل الرئيسية المؤثرة علي مستوي تثبيت النيتروجين تكافلياً، فان وجود مستوي عالي من النيتروجين المعدني يؤدي إلي أن النبات البقولي يمثله مع حدوث تناقص واضح في

أعداد وأحجام العقد، ولكن وجود مستوي منخفض من الأمونيا والنترات يشجع تكوين العقد وتثبيت النيتروجين، ولقد أثبتت الدراسات باستخدام النيتروجين N^{15} أن هناك علاقة عكسية بين معدل تثبيت النيتروجين ومستوي النيتروجين المعدني في التربة، ويفترض أن النبات البقولي عندما يمتص نيتروجين جاهز من التربة فإن النمو الخضري يزداد وتتجه أغلب الكربوهيدرات إلي عملية إنتاج أنسجة خضرية جديدة فتقل الكربوهيدرات التي تصل إلي العقد فيقل حجمها ومعدل تثبيت النيتروجين الجوي.

ويجب أن نشير إلي أنه من المهم وجود كمية من النيتروجين المعدني الميسر للنبات في التربة في أوائل عمر النبات قبل أن تبدأ العقد الجذرية في تثبيت النيتروجين خصوصاً في حالة النباتات ذات البذور الصغيرة والتي تكون كمية الغذاء المخزنة في البذور غير كافة لإمداد البادرة باحتياجاتها من النيتروجين خلال مراحل النمو الأولي، لذلك فعادة ينصح بتسميد النباتات البقولية بكمية ضئيلة من السماد النيتروجيني عند الزراعة لتغطية الفترة الأولي.

ولا تتوقف كمية ما تثبته النباتات البقولية من النيتروجين الجوي علي ما سبق ذكره من عوامل طبيعية أو كيميائية فقط، ولكن تتوقف أيضا علي عوامل حيوية تتعلق بكل من النبات والبكتريا ومقدار استجابة كل منهما للأخر أثناء معيشتها المشتركة ويرجع التفاوت في الاستجابة إلي ما يلي:

أ) سلالة البكتريا أو اختلاف السلالات داخل النوع الواحد من الريزوبيا

فالسلالات المختلفة لنوع واحد من البكتريا العقدية تختلف في مقدرتها علي تثبيت الأزوت الجوي بالاشتراك مع العائل، فمثلا إذا عزلت ١٠٠ مزرعة نقية من البكتريا التي تصيب البرسيم من عقد جذرية لنباتات مأخوذة من حقول برسيم مختلفة، فإن هذه السلالات البكتيرية تختلف في قدرتها علي تثبيت النيتروجين الجوي عندما تدخل في معيشة مشتركة مع صنف واحد من البرسيم، فقد وجد أن من بين مائة مزرعة يتم عزلها، نحو ٢٥ مزرعة لها القدرة العالية علي تثبيت النيتروجين، وقد أطلق علي السلالات التي لاتثبت النيتروجين أو تثبته بكميات ضئيلة اسم سلالة غير فعالة Ineffective تميزا لها عن السلالات الفعالة Effective strains.

ويعتقد بعض الباحثين أن اختلاف السلالات عن بعضها في مقدرتها علي تثبيت الأزوت يرجع إلي السرعة التي تتحلل بها العقد الجذرية، فالسلالات غير الفعالة تتحلل عقدها بسرعة عقب تكوينها بخلاف السلالات الفعالة التي تستمر عقدها فترة طويلة تثبت خلالها كمية كبيرة من النيتروجين قبل أن تتحلل، وعلي ذلك فالفرق بين الاثنين هو فرق كمي، فإذا قامت العقد الجذرية بوظيفتها مدة طويلة من الزمن تثبت خلالها كمية كبيرة من النيتروجين اعتبرت العقدة ناتجة من سلالة بكتيرية فعالة، أما إذا تحللت العقدة في فترة قصيرة فأنه رغما عن مقدرتها علي تثبيت النيتروجين الجوي خلال فترة حياتها، فإنها تعتبر ناشئة من سلالة غير فعالة.

ب) تخصص النبات العائل **Host plant specificity**

تختلف السلالات البكتيرية لصنف واحد من البكتريا العقدية في قدرتها علي تثبيت الأزوت في العوائل المختلفة التابعة لنفس المجموعة التبادلية، فإحدي السلالات قد تعطي قدرة عالية علي التثبيت في أحد العوائل وقدرة أقل علي عائل ثانى من نفس المجموعة، وهذه الظاهرة تلاحظ بكثرة، فمثلاً سلالات الميكروب *Rhizobium meliloti* المعزولة من البرسيم الحجازي تستطيع أن تكون عقدا جذرية مع كل من البرسيم الحجازي والنفل والحندقوق والحلبة التي تضمها مجموعة واحدة إلا أنه من الثابت أن البكتريا التي تعزل من عقد جذور البرسيم الحجازي، فأنه أقدر علي تثبيت كمية أكبر من الأزوت إذا ما لقحت البرسيم الحجازي عن بقية النباتات الداخلة معه في نفس المجموعة، كما أن للبكتريا التي تعزل من العقد الجذرية لنبات الحلبة القدرة العالية علي تثبيت النيتروجين عندما تلقح بها الحلبة عما إذا لقحت في البرسيم الحجازي، وقد يكون هذا التخصص أبعد مدي حيث نجد أن سلالة واحدة من البكتريا العقدية الخاصة بالبرسيم قد تكون أقدر علي تثبيت الأزوت بالاشتراك مع سلالة معينة من البرسيم عن سلالة أخري من نفس النوع.

ج) عدد البكتريا العقدية من السلالة الملائمة في التربة

وهذه النقطة ذات أهمية كبيرة لأن عدم وجود العدد الكافي من سلالة قوية معناه نقص في عدد العقد المتكونة علي النبات، وبالتالي نقص معدل تثبيت النيتروجين، ومن الملاحظ أنه بعد تلقيح الأرض بالبكتريا العقدية فإن أعدادها

تتناقص في التربة بعد فترة، وهذا التناقص يرتبط بعوامل كثيرة بافتراض أن التربة خصبة ولا تحتوي علي مواد أو ظروف مانعة لنمو الميكروبات ومن هذه العوامل وجود البروتوزوا التي تلتهم البكتريا، وأيضاً البكتريا من جنس ***Bdellovibrio*** والتي تتطفل علي البكتريا العقدية وأيضاً وجود البكتريوفاج **Bacteriophage** الذي يتطفل ويحلل خلايا البكتريا العقدية. ولقد لوحظ أن استمرار زراعة أرض معينة بمحصول بقولي واحد لمدة طويلة مثل البرسيم الحجازي أو البرسيم العادي فإن المحصول يقل والنباتات تصبح ضعيفة، ويطلق علي هذه الظاهرة اسم **Alfalfa or Clover sickness** ، ولقد عزي هذا إلي تأثير البكتريوفاج علي البكتريا المتخصصة مما يؤثر علي عملية تثبيت النيتروجين.

التلقيح بالبكتريا العقدية

ثبت أن تلقيح التربة ببكتريا العقد الجذرية للنباتات البقولية هام جدا، خصوصا في الأراضي المستصلحة حديثاً التي لم تزرع بعد بالنباتات البقولية، أو عند إدخال صنف جديد من النباتات البقولية التي لم يسبق زراعتها بعد مثل فول الصويا، أو حتي في الأراضي القديمة التي حدث تدهور في محتواها من البكتريا العقدية وتوجد عدة طرق لتلقيح النباتات البقولية بواسطة البكتريا العقدية منها:

١) استعمال التربة

وفي هذه الطريقة ينقل جزء من التربة من الطبقة السطحية (٥-٢٠سم) من حقل سبق زراعته بنجاح بنفس المحصول البقولي المراد زراعته، وتكفي كمية ٢٠٠ كجم تربة لتلقيح فدان واحد تنثر هذه الكمية علي سطح الحقل وتخلط جيدا بالتربة قبل زراعة البذور.

ولهذه الطريقة عدة عيوب منها عدم التأكد من معرفة ما إذا كانت التربة تحتوي علي العدد الكافي من البكتريا لتكوين العقد الجذرية، كما قد تحتوي تلك التربة علي بذور حشائش ضارة كالهالوك أو علي أفات وميكروبات مرضية لذلك فإن هذه الطريقة قلما تستعمل الأن.

٢) استعمال المزارع البكتيرية

وفي هذه الطريقة تخلط البذور قبل زراعتها مباشرة بمزرعة نقية من بكتريا العقد الجذرية، وقد تكون هذه المزارع سائلة أو علي أجار أو علي مادة حاملة والنوع الأخير هو الشائع الاستعمال.

تبدأ الخطوات الأولي باختبار السلالة الفعالة من الريزوبيا للنبات العائل التي تتحمل ظروف التخزين ودرجات الحرارة العالية ثم تنمي البكتريا في مزرعة سائلة مناسبة وتترك لتنمو علي درجة ٢٥°م، بالنسبة للبيئة الغذائية فإن الريزوبيا ذات احتياجات غذائية عادية ويمكن أن تزرع في مزارع مهتزة أو في أوعية زجاجية بهواء معقم أو في مخمرات مناسبة علي أن تزود بفتحات لإضافة اللقاح وأخذ العينات.

مصدر الكربون المناسب هو السكروز والمانيتول والجليسرول والأرابينوز، وإن كانت الريزوبيا بطيئة النمو لا تمثل السكروز، وتستعمل مستخلصات الخميرة عادة كمصدر للنيتروجين وعوامل النمو.

مزارع البكتريا علي مادة حاملة

تلقح البكتريا كما ذكرنا علي بيئة سائلة مناسبة مثل بيئة مستخلص التربة، ثم تترك لتنمو علي درجة ٢٥°م حتي إذا ما بلغ النمو أقصاه بعد ٥ أيام للسلالات سريعة النمو و٧ أيام لبطيئة النمو، يضاف السائل المحتوي علي البكتريا إلي مادة حاملة مثل السماد العضوي الصناعي **Compost** المعقم أو الدبال أو خليط من التربة والفحم ويخلط جيدا علي أن تكون درجة الرطوبة النهائية من ٤٠–٥٠٪ ثم يعبأ المخلوط في أكياس سيلوفان أو علب صفيح محكمة القفل ثم توزع بالأسواق، والمزارع المحضرة بهذه الطريقة تحتفظ بحيويتها لمدة طويلة خاصة إذا حفظت علي درجة حرارة منخفضة علي أنه من المستحسن استعمال تحضيرات حديثة للحصول علي أفضل النتائج، ولاستعمال هذا النوع من المزارع، تؤخذ كمية مناسبة من المزرعة ويضاف إليها الماء بكمية كافية لعمل معلق ويضاف إليه البذور المراد تلقيحها مع وجود مادة لاصقة مثل الصمغ العربى أو محلول السكروز، ثم تقلب معه جيدا وتنشر لتجف قبل زراعتها، تحضر هذه المزارع الأن تجارياً بكثرة وتوجد

بالأسواق تحت أسماء مختلفة، وقد تحتوي المزرعة علي صنف بكتيري لتلقيح النباتات التي تقع في مجموعة واحدة مثل مجموعة البرسيم أو البسلة مثلاً، أو قد تحتوي علي البكتريا علي عدة أنواع تصلح لتلقيح أكثر من مجموعة نباتية مثل مجموعتي البرسيم الحجازي وفول الصويا، ويجب أن يكون الحامل المستخدم متوفرة محلياً، رخيص الثمن، غير سام للريزوبيا له قدرة عالية علي الامتصاص، سهل التعقيم، ومن الحوامل التي تستعمل البيت الناعم ، الطمي، الفحم، قوالح الذرة المطحونة، مصاصة القصب، كومبوست قشرة بذرة القطن وغيرها من المواد المماثلة، علي أن تنعم المادة المستعملة وتزود بالرطوبة والعناصر الغذائية المناسبة.

ويجري حالياً استعمال حامل عبارة عن خليط من تربة طميية وقش البرسيم المطحون بنسبة ٣:٣ وهذا الخليط يوفر وسط متعادل ورطوبة ومواد مغذية مناسبة للميكروب، يلقح الحامل بمزرعة نقية نشطة عمرها خمسة أيام من الريزوبيوم وتخلط جيدا، ويصل عدد الميكروبات بالخليط إلي تركيز حوالي ٥٠٠ × ١٠ ^{٦}/جم علي الأقل وتعيش تلك الميكروبات بكفاءة لعدة أشهر علي درجة حرارة الحجرة وتكفي العبوة ١٠٠جم لتلقيح فدان وقد لوحظ أنه يلزم لكل بذرة ١٠٠ ميكروب علي الأقل لتكوين عقد ناجحة، يعبأ اللقاح في أكياس من البولي إثيلين المعقمة بأشعة جاما لأن التعقيم بالحرارة يتلف تلك الأكياس، وتستعمل ذات الكثافة المنخفضة التي لا يزيد سمكها عن ٠,٠٤ مم لتسمح بتبادل الغازات وتعتبر هذه الأكياس أقل أنواع العبوات فقدا للرطوبة أثناء التخزين.

وتؤثر ظروف تخرين الحامل المحمل باللقاح، خاصة درجة الحرارة والرطوبة النسبية كثيرا علي حيوية الريزوبيا، لذلك فإنه قبل استعمال اللقاح يجب أن تجري عليه اختبارات الجودة وذلك بعد الريزوبيا واختبار حيويتها للتأكد من قلة نسبة التلوث.

الريزوبيا والكائنات المجهرية الأخري

قد توجد علاقات تضاد بين الريزوبيا وبعض الكائنات المجهرية الأخري المحيطة بالريزوبيا بالتربة وحول الجذور، هذا التضاد قد يكون مباشرا كما في حالة الافتراس **Predation** بواسطة **Protozoa, Myxobacteria, *Bdellovibrio*** ، أو يكون غير مباشر بجعل الظروف البيئية المحيطة بالريزوبيا غير مناسبة كما في

حالة تغيير الرقم الهيدروجيني pH، وبالتنافس علي المواد الغذائية، إفراز مواد سامة أو مضادات حيوية، ولقد لوحظ تعرض الريزوبيا المضافة للتربة للتنافس مع بعض أنواع البكتريا مثل الباسيلس والسيدوموناس ومن الريزوبيا الموجودة أصلاً بالتربة وكذلك من بعض الفطريات مثل الأسبرجلس والبنسيليوم، كما عزلت بعض أنواع من *Rh.trifolii* لها القدرة علي إفراز مواد بروتينية من نوع **Bacteriocins** لها تأثير ضار علي البكتريا مثل تلك الريزوبيا تستطيع أن تسود في مزارع الريزوبيا الخليطة، لذلك فإنه عند استعمال لقاحات بها أنواع متعددة من الريزوبيا، فان كل سلالة يجب أن تنمي مستقلة بالبيئة السائلة لتجنب سيادة أحداها علي الأخري ثم تخلط مع بعضها عند إضافتها للحامل، بالإضافة إلي ذلك فإن الريزوبيا تتعرض للتطفل بواسطة البكتريوفاج المسمي **Rhizobiophage** وقد بدأت الملاحظات الأولي الخاصة بذلك منذ عام ١٩٣٣م ، ومنذ ذلك الوقت بدأ يتضح مدي تواجد الريزوبيوفاج في العقد الجذرية وعلي الجذور وفي التربة، ولقد أمكن عزل هذه الأنواع من البكتريوفاج من تربة وجذور وعقد نباتات بقولية عديدة مثل البرسيم المصري والبرسيم الحجازي وغيرها خاصة في الأراضي التي تزرع بنبات بقولي معين باستمرار ولمدة طويلة، ولقد أوضحت الدراسات وجود فاجات الريزوبيا في الأراضي المصرية بتركيزات ملموسة لذلك فإنه ينصح باستعمال سلالات من الريزوبيا مقاومة للفيروس ويمكن للريزوبيا أن تكتسب المقاومة للفاج بثلاث طرق:

١- منع ادمصاص الفاج علي سطح الخلايا البكتيرية.

٢- منع اختراق الفاج للخلية البكتيرية.

٣- هضم البكتريا لـ **DNA** الفاج بعد دخوله.

وعلي ذلك فان استخدام سلالات من ريزوبيا فول الصويا مقاومة للفاج وللمضادات الحيوية وملائمة لظروف التربة المصرية يمكننا من التغلب علي مشكلة عدم حيوية ريزوبيا فول الصويا، وكل أنواع الريزوبيا عرضة لمهاجمة الريزوبيوفاج ولكل نوع ريزوبيا الريزوبيوفاج الخاص به، فمثلاً نجد **Melilotiphage, Trifoliiphage, Lupiniphage** ، ومهاجمة الريزوبيوفاج للريزوبيا تتشابه في خطواتها مع نظم باقي الفاجات الأخري والتي تنتهي بتحلل خلايا العائل مما يترتب

عليه اضمحلال في تكوين العقد الجذرية للنبات البقولي المعين وتدهور في محصوله، وإصابة النبات البقولي نفسه بالفيروسات النباتية يؤدي إلي انخفاض في عدد وحجم العقد الجذرية بالنسبة للنبات المصاب عن النبات السليم.

مقارنة بين تثبيت النيتروجين بواسطة الميكروبات اللاتكافلية والتكافلية

تتشابه عملية تثبيت النيتروجين فى البكتريا العائشة منفردة والبكتريا التكافلية، إلا أن الاختلافات تكمن فى:

١) طور النمو الذي يتم خلاله التثبيت

في حالة الميكروبات العائشة منفردة مثل الأزوتوباكتر يحدث التثبيت في الخلايا النامية في الطور اللوغاريتمي، حيث يتحول النيتروجين المثبت إلي بروتين خلوى، أما في حالة الميكروبات العائشة بالاشتراك، فإن التثبيت يتم في الطور الثابت الذي يستمر حوالى شهر.

٢) كمية النيتروجين المثبت لكل جرام خلايا

تثبت الأزوتوباكتر حوالى ٠.١ جم نيتروجين لكل جرام خلايا، وهذا أقل بكثير من تلك الكمية المثبتة في حالة الريزوبيا التي تثبت حوالى ١-٢.٥ جم نيتروجين لكل جرام خلايا بكتيرويد طوال مدة حياتها.

٣) كفاءة عملية التثبيت (مليجرام نيتروجين مثبت لكل جرام جلوكوز مستهلك)

تثبيت الأزوتوباكتر حوالى ١٠-٢٠ مليجرام ، أما الـ ***Klebsiella*** فتثبت حوالى ٥ مليجرام، والكلوستريديا من ٥-١٠ مليجرام نيتروجين لكل جرام جلوكوز مستهلك، أما في حالة ريزوبيا البسلة فإنها تثبت حوالى ٢٧٠ مليجرام نيتروجين لكل جرام جلوكوز مستهلك، وهي كمية أكبر بكثير من المثبت في حالة البكتريا العائشة منفردة، هذا الفرق الكبير في كمية النيتروجين المثبت بين النوعين يعود إلي ظاهرتين هما:

أ- التثبيت في حالة الأزوتوباكتر (والخلايا العائشة منفردة) يكون في خلايا نامية تستهلك الكثير من الكربون والطاقة لتكون الخلايا الجديدة النامية.

ب- يحتاج الأزوتوباكتر إلي كمية كبيرة من مركبات الكربون في التنفس الهوائى الزائد به وذلك لإبعاد الأكسجين عن إنزيم النيتروجينيز، وبذلك فإن الكمية المتبقية منه والتي تستخدم لتثبيت النيتروجين تصبح قليلة.

٤) النشاط النسبى لتثبيت النيتروجين مقدرا علي أساس مليجرام نيتروجين لكل جرام بروتين في الساعة

يلاحظ أن النشاط النسبي يكون أعلى بكثير في حالة الأزوتوباكتر عن حالة البكتيرويد، فبفرض أن عمر الجيل في مرحلة الطور اللوغاريتمي للأزوتوباكتر حوالى ٣- ٤ ساعة، وبفرض أنه في خلال هذه المدة يتكون واحد جرام بروتين من الخلايا يحتوى علي ١٦٠ مليجرام نيتروجين، فإن الكفاءة النسبية تصبح حوالى ٤٠-٨٠ مليجرام نيتروجين لكل جرام بروتين خلايا/ ساعة، أما في حالة الريزوبيا فإن تلك الكفاءة النسبية تكون أقل حيث تقدر بحوالى ٣-٥ مليجرام نيتروجين لكل جرام بروتين بكتيرويد في الساعة.

٥) مصير النيتروجين المثبت

الأزوتوباكتر وباقى الميكروبات المثبتة للنيتروجين في الحالة المنفردة تستعمل الجزء الأكبر من النيتروجين المثبت في تكوين خلاياها النامية، بينما تفرز حوالى من ٧-١٣٪ من النيتروجين المثبت خارج خلاياها، وفي حالة الطحالب المثبتة فإن النسبة تتراوح ما بين ٢٠-٤٠٪ وهذا بعكس ما يحدث في حالة الريزوبيا التي تفرز أغلب ما تثبته من نيتروجين (أكثر من ٩٠٪) خارج خلاياها.

(الباب الثانى – الفصل الثالث)

تثبيت النيتروجين تكافلياً في النباتات غير البقولية

Symbiotic nitrogen fixation in non-leguminous plants

كان المعتقد قديما أن العقد الجذرية المثبتة للنيتروجين لا توجد إلا علي النباتات البقولية، ولكن ثبت أن هناك نباتات غير بقولية يتكون في جذورها أيضا عقدا بكتيرية قادرة علي تثبيت النيتروجين، وأن هذه النباتات تتبع النباتات مغطاة البذور **Angiosperm** مثل ***Alnus glutinosa*** الذى يعتبر خشب جيد للأثاث ونخيل الشمع ***Myrica gale*** الذى يحسن من خصوبة التربة والهيبوفيا **Hippophae** الذى يثبت للكثبان الرملية والكازوارينا **Casuarina** التى تعتبر مصدات للرياح.

وبالإضافة إلي النباتات مغطاة البذور **Angiosperm** ، فإن هناك بعض النباتات معراة البذور **Gymnosperm** تكون عقدا بكتيرية قادرة علي تثبيت الأزوت، ومن أمثلة هذه النباتات أجناس ***Cycas & Macrozamia*** والميكروب المسبب للعقد عبارة عن سيانوبكتريا وفرانكيا من الأكتينوبكتريا، ومعظم تلك النباتات سواء المغطاة أو المعراة البذور عبارة عن أشجار خشبية معمرة منتشرة في أماكن كثيرة من العالم في أراضى فقيرة في الأزوت.

وكل هذه الأشجار إذا نميت في وسط فقير في النيتروجين فإن نموها يكون ضعيفا، أما إذا لقح الوسط الذي تنمو فيه بمطحون العقد الجذرية لنبات من نفس النوع فإن النمو يتحسن ويختفي أعراض نقص النيتروجين، ولقد أمكن إثبات قدرة العقد الجذرية لهذه النباتات علي تثبيت النيتروجين بطريقة اختزال الأستيلين دلالة على وجود النيتروجينيز، والعقد الجذرية في بعض هذه النباتات مثل نبات ***Alnus glutinosa*** قد يصل حجمها إلي حجم كرة التنس (من ٥–٦ سم في القطر)، وكمية النيتروجين المثبتة تختلف حسب النبات وظروف التربة فتتراوح بين ١٢–٢٠٠ كجم/هكتار في حالة الألناس و٥٨ كجم/هكتار في حالة الكازوارينا سنوياً.

وقدرة الأشجار التابعة للأنواع المثبتة علي المعيشة التكافلية وحصولها علي احتياجاتها من النيتروجين من الجو لها قيمة بيئية كبيرة، حيث أن بعض هذه النباتات أمكنها أن تنمو جيدا في أراضى فقيرة في النيتروجين مثل الكثبان الرملية، كما أن نمو هذه النباتات في هذه الأراضى الفقيرة في النيتروجين يزيد من محتواها النيتروجيني زيادة واضحة ويمكن تقسيم تلك النباتات غير البقولية من حيث الميكروبات المكونة للعقد إلي ثلاث مجاميع كما هو موضح بالجدول التالي:

Non- leguminous root nodulated plants

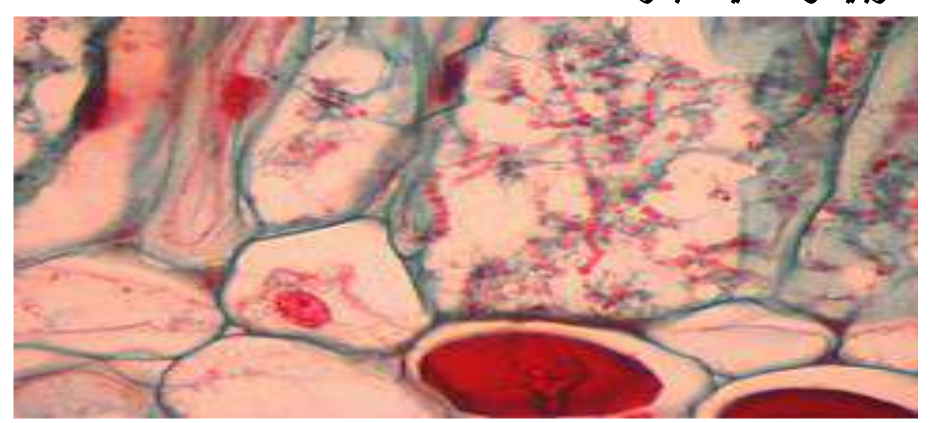
Endophyte	Symbiotic plant
I. *Rhizobium*	A- Angiosperms مغطاة البذور *Trema, Zygophyllum*
II. Actinobacteria *(Frankia)*	*Alnus, Coriaria, Hippophae, Casuarina, Myrica*
III. Blue green algae • *Nostoc* • *Anabaena*	B- Gymnosperms معراة البذور *Cycas, Zamia, Macrozamia*

١) بالنسبة لنباتات المجموعة الأولى والتي يمثلها نبات *Trema cannabina* فإن المسبب للعقد الجذرية هو نوع من ريزوبيا Cowpea type .

٢) بالنسبة لنباتات المجموعة الثانية مثل شجر الألناس ونخيل الشمع والهيبوفيا والكازوارينا فإن البكتريا المثبتة للأزوت بالعقد الجذرية تتبع جنس *Frankia*.

٣) بالنسبة لنباتات المجموعة الثالثة فإن أكثر من ٩٠ نوع كلها تابعة لعائلة Cycadaceae مثل أشجار السيكاس حيث وجد أن جذورها تحتوي علي خيوط من السيانوبكتريا المثبتة للأزوت مثل *Nostoc, Anabaena* موجودة داخل خلايا العائل في منطقة القشرة الخارجية للجذر وفي حالة السيكاس بالذات فإن

السيانوبكتريا *Anabaena cycadeae* يوجد في منطقة مميزة بين القشرة الخارجية والداخلية للجذر.



شكل ٢(٣)١: قطاع عرضى في جذر السيكاس وبداخله الأنابينا

الفرانكيا وتثبيت الأزوت تكافليا

في السنوات الأخيرة زاد الاهتمام بالمعيشة التكافلية بين الفرانكيا من الأكتينوبكتريا والنباتات غير البقولية المثبتة لأزوت الهواء الجوي والمسماه بالـ Actinorhizal plants (يتكون هذا التعبير من مقطعين الأول Actino من الأكتينوبكتريا والثاني rhizal من جذور النباتات المتعاونة) والـ Actinorhizal plants تشمل ٢٤ جنسا نباتيا تتبع ٨ عائلات، هذه العوائل النباتية مختلفة في صفاتها ولا تشترك معا إلا في معيشتها التكافلية مع ميكروب الفرانكيا، وهي منتشرة تقريباً في كل مكان في العالم والعديد من أنواعها يمكن تمييزها بمعيشتها في المناطق الفقيرة غذائيا في شمال وجنوب المناطق المعتدلة.

ومن أكثر أجناس الـ Actinorhizal plants انتشارا هى *Alnus, Elaeagnus, Myrica, Casuraina* وأدت القدرة العالية للعديد من أنواع الـ Actinorhizal plants علي النمو بسرعة في الأراضى الفقيرة إلي انتشارها بسرعة واستخدامها في الغابات واستصلاح الأراضى وتثبيت الكثبان الرملية.

والعقد الجذرية للـ Actinorhizal plants عبارة عن تجمعات من الجذور الجانبية الصغيرة والمحتوية علي النسيج الوعائى المركزي تكون فصوص العقد كل فص يتكون من أوعية مركزية محاطة بخلايا القشرة Cortex المحتوية علي

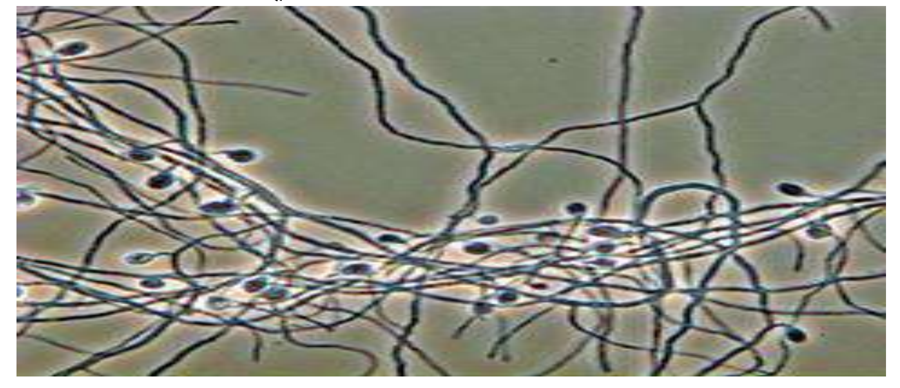
الفرانكيا علي عكس العقد الجذرية للبقوليات التي تكون علي شكل ورم في الأنسجة الوعائية الخارجية للخلايا المصابة ، الفرانكيا الموجودة داخل العقد الجذرية للـ Actinorhizal plants وهي عبارة عن خيوط Filaments محاطة بأغشية خلوية لخلايا العائل بالإضافة إلي مواد شبيهة بالجدار الخلوي، علي عكس العقد الجذرية في النباتات البقولية فالريزوبيا تكون عبارة عن خلايا فردية ذات أشكال مميزة أثناء طور تثبيت الأزوت Bacteroids ومحاطة فقط بالـ Cell membrane لخلايا العائل.

جنس الفرانكيا *Frankia*

في النصف الثاني من القرن التاسع عشر وصفت الكائنات الحية الدقيقة الموجودة داخل العقد الجذرية للـ Actinorhizal plant بأنها تتبع الـ Actionmycetes وهي بطيئة النمو وتنقسم في أكثر من اتجاه.



شكل٢(٣)٢:عقد جذرية لـ *Frankia* علي جذر العائل



شكل٢(٣)٤:خيوط الفرانكيا وعليه الحويصلات

اعتمدت أول محاولة لتقسيم وتصنيف الفرانكيا علي قدرة الميكروب في غزو جذور النباتات الراقية ومعيشتها تكافليا وأيضا علي حسب الاختلافات المورفولوجية والتركيبية بينها وبين أنواع الأكتينوبكتريا الأخرى وكذلك الصفات السيتوكيميائية والتركيب الدقيق للميكروب، وأدت نتائج هذه الدراسات إلي وضع الفرانكيا في عائلة الـ Frankiaceae كجنس الـ *Frankia*، وعلي عكس الريزوبيا التي أمكن عزلها وتنميتها في المعمل بنجاح في نهاية القرن الثامن عشر فإن الفرانكيا أمكن عزلها وتنميتها علي البيئات الصناعية منذ عام ١٩٧٨م.

ونشير إلي تقرير علمي ناجح لعزل هذا الميكروب بصورة نقية من نبات الـ *Comptonia peregrima* علي بيئة صناعية عام ١٩٨٧م بواسطة العالم الأمريكي Callaham وكان أول من قام بعزل وتنمية الفرانكيا علي بيئة صناعية من أشجار الكازوارينا هما العالمان الفرنسيان Diem and Dommergues في عام ١٩٨٣م وكان التلقيح يتم عن طريق العقد الجذرية للفرانكيا قبل عام ١٩٩٠م. أما في مصر فقد تم لأول مرة عزل سلالات الفرانكيا الفعالة من أشجار الكازوارينا في وحدة التسميد الحيوي بكلية الزراعة جامعة عين شمس عام ١٩٩٠ م، ومما هو جدير بالذكر أن هناك تقريرا واحدا حتي الأن عن نجاح عزل الفرانكيا من التربة مباشرة باستخدام طريقة Sucrose fractionation ومازالت الدراسات والبحوث العلمية المكثفة في مختلف دول العالم تتزايد لمعرفة المعلومات التفصيلية لوضع ميكروب الفرانكيا في الشجرة الوراثية للأحياء الدقيقة، والصعوبات الناجمة عن تأخير عزل سلالات الفرانكيا ترجع أساسا لبطء معدل نموها وعدم معرفة احتياجاتها الغذائية.

الصفات المورفولوجية للفرانكيا

تتميز الفرانكيا بوجود ثلاث أنواع من الخلايا التي يمكن مشاهدتها في المزارع النقية هى:

أ- خلايا خضرية: عبارة عن هيفات مقسمة يتراوح قطرها من ٠,٥ - ١ ميكروميتر علي حسب العمر وموجبة لصبغة جرام لكن مثل بقية الأكتينوميسيتات هذا

التفاعل متغير مع عمر المزرعة ويتكون علي الهيفات النوعين الآخرين من الخلايا.

ب- الجراثيم: وهي خلايا متخصصة تنتج بأعداد كبيرة في الأكياس الإسبورانجية غير محددة الشكل، والجراثيم الإسبورانجية غير متحركة، معدلات نموها متغير اعتمادا علي الظروف المزرعية ونوع السلالة والعائل النباتي المعزولة منه والكيس الجرثومي يتطور في نهاية الهيفات ويكون مدمج ضمن الهيفات وهو مختلف في الحجم والشكل وبصفة عامة الكيس الجرثومي الناضج فنجاني أو كمثري الشكل يتراوح حجمه من ٢٠-٣٥ ميكروميتر، وهو مقسم إلي حجرات عديدة محتوية علي الجراثيم الإسبورانجية يتراوح حجم الجرثومة من ١.٥ - ٢.٥ ميكروميتر، وبخلاف غالبية الأكتينوميسيتات فإن الكيس الجرثومي الفرانكيا لا يكون محمول هوائيا علي سطح النمو لكن يكون بداخلها.

هذه الجراثيم تنتج في المعمل في حالة قدم المزرعة أو في حالة نمو الفرانكيا في بيئة خالية من الأزوت أو إذا ما أضيفت بعض المواد الغذائية خاصة مثل بعض أنواع من الفيتامينات.

ج- الحويصلات: النوع الثاني من الخلايا المتخصصة هو الحويصلات Vesicles وهو مكان إنزيم النيتروجينيز المثبت لأزوت الهواء الجوي، وتنتج الحويصلات عندما يكون تركيز النتروجين في البيئة منخفض جداً، وهي خلايا متصلة بالميسيليوم بواسطة الـ Stalk cell وقد يوجد تقسيم واحد أو أكثر داخل سيتوبلازم الحويصلة يؤدي إلي تقسيم الخلايا إلي حجرات، كما ثبت أن الحويصلات قد تلعب دورا كوسيلة للتكاثر بالإضافة إلي تخصصها في تثبيت أزوت الهواء الجوي.

وبالإضافة إلي الثلاث تركيبات المعروفة جيداً وجد أن لبعض سلالات الفرانكيا المعزولة من الكازوارينا تركيب رابع ناتج من تحول الهيفا الخضرية إلي خلايا غليظة منتشرة ولها جدار خلوي مزدوج، ويمكن أن يتفكك إلي ما يشبه الجراثيم وهي تعمل

علي الانتشار والتكاثر (أي أنها تنمو مرة أخري إلي جراثيم وحويصلات) وهذا يحدث عندما تتحلل الخلايا الخضرية.

النمو في البيئات السائلة Growth in liquid media

الفرانكيا عند نموها في البيئات السائلة لا تسبب أي تعكير وتبقي المستعمرات في حالة المزارع الثابتة معلقة حتي عند رجها، المستعمرات تكون بيضاوية أو مستطيلة يتراوح قطرها من ٠,٥ – ١ ملليمتر ويكون مركزها لزج ويمتلئ المركز بكتل من الأكياس الإسبورانجية والحويصلات وتكون الهيفات النشطة نامية علي حواف المستعمرات، تتجمع المستعمرات المنفردة مع بعضها وتكون ما يشبه العنقود Clusters من المستعمرات، وتترسب في قاع البيئة، كما أن هناك بعض السلالات تظهر قدرة علي الالتصاق بالأسطح الصلبة، في حين أن المزارع المهتزة يتراوح قطر المستعمرة ما بين ٢٠٠-٢٥٠ ميكروميتر ولا تحتوي علي جراثيم أو حويصلات ولكن تحتوي فقط علي ميسيليوم نشط من الميكروب.

النمو في البيئات الصلبة Growth in solid media

عند نمو الفرانكيا في البيئات الصلبة تحتاج إلي حوالي ٣ أسابيع حتي تعطي المستعمرة التي تكون أشكالا مختلفة فقد تكون نجمية أو منتشرة مع شبكة مفككة من الهيفات أو شبكة مندمجة مع هيفات كثيفة النمو علي أطراف المستعمرة. فهناك بعض الصفات المميزة للفرانكيا والتي تميزها عن بقية مستعمرات الأكتينوميسيتات، حيث تظهر المستعمرات ذات مركز مستدير به بروزات مكونة من الهيفات والأكياس الإسبورانجية والحويصلات كلها تكون مطمورة في مركز المستعمرة، والمستعمرات تكون عادة بيضاء ولكن بعض السلالات تنتج جراثيم إسبورانجية سوداء أو صبغات حمراء تنتشر في بيئة النمو أو تترسب كبلورات.

٢- الصفات الفسيولوجية للفرانكيا

كل سلالات الفرانكيا المعزولة التى تم عزلها هوائية وعضوية التغذية Chemoorganotrophic بعضها يكون محبا للأوكسجين بكمية قليلة، الفرانكيا ميكروب بطئ النمو فطول عمر الجيل يتراوح من ٢٠ ساعة إلي عدة أيام ولكن

حديثاً أمكن تحسين ظروف نمو الفرانكيا فأدي ذلك إلي قصر عمر الجيل إلي ٧-١٠ ساعات والحصول علي أعلي نمو بعد ٤-٥ أيام ومضاعفة كمية النمو المتحصل عليه، ومعظم سلالات الفرانكيا تستخدم الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة والمركبات الوسطية لدورة Tricarboxylic acid cycle مثل السكسينات أو المالات، وكذلك فان كل السلالات تقريباً تستخدم البروبيونات كمصدر للكربون والطاقة ولهذا يوجد مفتاحين للأنزيمات في دورة الـ Glycoxylate وهما الـ Malate synthases والـ Iso-citrate lyase ، كما أنها تستطيع تحليل "Degradation" المواد الدهنية مثل الـ Tween 80 وكذلك البكتين، السليولوز. كما ثبت قدرتها علي القيام بالـ β- oxidation للأحماض الدهنية مما يدل علي وجود دورة الـ Glycoxylate ، كما ثبت أن هناك إنزيمات تشترك في تكسير السكريات الأحادية في المزارع النامية في وجود الجلوكوز، ومعظم السلالات إن لم تكن كلها تخزن السكريات في صورة جليكوجين وتريهالوز وهي تحتوي بذلك علي الإنزيمات الضرورية لهدم المواد الكربوهيدراتية، وعلي عكس الريزوبيا فان معظم سلالات الفرانكيا عند نموها في المزارع النقية تكون قادرة علي استخدام الأمونيا أو غاز النيتروجين كمصدر للنتروجين، ومعظم السلالات قادرة علي تثبيت الأزوت الجوي في المزارع النقية In vitro وثبت وجود إنزيم النيتروجينيز بها باستخدام طريقة اختزال الأستيلين كما أن الجينات المسئولة عن إنتاج إنزيم النيتروجينيز تكون عالية الحفظ Highly conserved تشابه جداً الموجودة في الميكروبات المثبتة لأزوت الهواء الجوي، والدراسات التي أجريت باستخدام الـ Immunogold labeling وكذلك تلك التي أجريت علي معلق نقي من الحويصلات أكدت أن إنزيم النيتروجينيز يكون موجودا فقط في الحويصلات ولم يثبت وجوده في الهيفات.

وتستطيع الفرانكيا تحويل الأمونيا الناتجة من نشاط إنزيم النيتروجينيز إلي جلوتامين Glutamine من خلال تخليق Glutamine synthetase ، ولم يثبت وجود Glutamate dehydrogenase كما ثبت احتواء مزارع الفرانكيا علي مستويات معنوية من Fe, Mn المحتوية علي إنزيمات Super oxide

dismutase فـي مختلـف الــ Isozymes التــي يمكـن أن تعمـل كعامـل إضـافي للحماية من الأكسجين.

٣- الخصائص السيتوكيميائية Cytochemical characteristics

تم دراسـة التركيب الكيميائي وذلك بالتحليل الكيماوي للجدار الخلوي للعديد مــن ســلالات الفرانكيــا المعزولــة، وأظهــرت النتــائج وجــود أحمــاض -Meso diaminopimelic والجلوتاميك والألانين والميوراميك والجلوكوز أمين كمكونـات مميـزة، وعلــي ذلــك أقتــرح أن جــنس الفرانكيــا يتميــز بجـدار خلــوي مــن النــوع Chemotype III الاكثـر وجـودا ضـمن الأكتينوميسـيتات الهوائيـة (يحتـوي علـي Meso-diaminopimelic acid ولا يحتوي علي حمض الجليسين).
كما وجد أن سكر الـ 2-0 Methyl-D-Mannose موجود فـي سلالات الفرانكيا المختلفـة ولكنـه يغيب عن كـل الأكتينوميسـيتات الأخـري، كمـا أن تحليـل الأحمـاض الدهنيـة كميـاً ونوعيـاً يعتبـر مـن الاختبـارات الهامـة التـي تستخدم فـي التفرقـة بـين السـلالات وكذلك نشـاط إنزيمـات Hydrogenase, Peroxidase, Esterases يستخدم أيضاً للتفريق بين سلالات الفرانكيا وعلـي ذلك يمكن أن تكون هذه الطرق من الطرق السريعة للتفرقة بين سلالات الفرانكيا شديدة القرابة.

الأزولا *Azolla*

الأزولا نوع من السرخسيات المائية Water ferns التي تمثل علاقـة تعاون وثيقـة بـين النبـات والسـيانوبكتريا مـن جنس *Anabaena* من حيث تبـادل نـواتج التمثيل الغذائى من كربوهيدرات ونيتـروجين، فكل من النبـات والبكتريـا يكونـان وحدة واحدة، ويتم تثبيت النيتروجين خلال المعيشة التكافلية.

والأزولا تتبـع Phylum pteridophyta, Order Salviniales, Family Azolaceae وهذه العائلـة تكون جراثيم من نوع Heterospores free floating وجنس الأزولا *Azolla* يقسم حسب طريقـة التكـاثر إلـي سـتة أنـواع هـي *Azolla caroliniana, A. filiculoides, A. mexicana*، والأنـواع الـثلاث هذه أكثر انتشارا في أوروبا وأمريكا، أما الأنواع الثلاثة التالية *A. microphylla,*

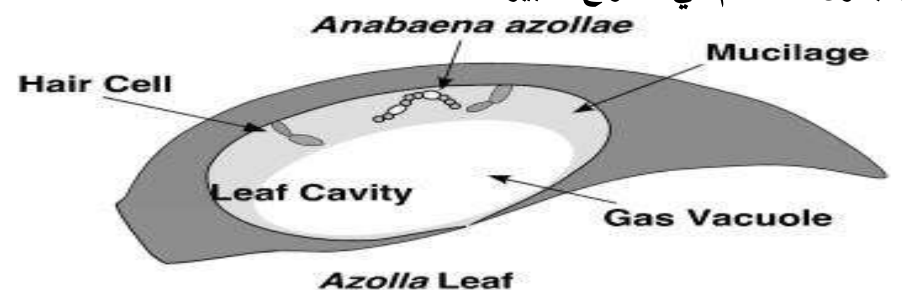
A. pinnata, A. nilotica فتكثر في المنـاطق الاستوائية وشبه الاستوائية وجنوب شرق أسيا، والنوع الأخير *A. nilotica* يوجد بكثرة في أعالى النيل والسودان.



شكل ٢(٣)٥: أنواع مختلفة من الأزولا

ولقد بدأت في مصر منذ عام ١٩٧٧م دراسات علي تأثير التلقيح بنبات الأزولا علي نمو الأرز باستخدام سلالات تم استيرادها من الخارج ، ولقد أظهرت التجارب أن النوعين *A. filiculoides, A. caroliniana* أكثر الأنواع تجاوباً مع ظروف الأراضى المصرية.

الأزولا نبات واسع الانتشار فهي توجد في البحيرات والترع وفي الحقول المغمورة بالمياه Paddy soils في كل جهات العالم خاصة في المناطق الاستوائية التي يتكاثر فيها بسرعة عائماً علي سطح البحيرات والمستنقعات، فهو من النباتات المائية الطافية المكونة من ريزوم متفرع بالتبادل، ذو أوراق مفصصة تفصيص ثنائى رأسى، وللسرخس جذور رقيقة تتدلى في الماء بطول ٢سم في الأنواع الصغيرة أو تصل بطول ١٠ سم في الأنواع الكبيرة.



شكل ٢(٣)٦: قطاع عرضى في ورقة الأزولا بداخلها الطحلب

والأوراق مثلثة الشكل تعوم علي سطح الماء فردية أو في كتل معطية لسطح الماء لوناً أخضرا محمرا، لاحتوائها علي صبغة الكلوروفيل الخضراء وصبغة الأنثوسيانين الحمراء، وقطر الورقة يتراوح ما بين ١-٢سم في الأنواع الصغيرة مثل *A. pinnata* ويصل إلي ١٥ سم أو أكثر في الأنواع الكبيرة مثل *A. nilotica* ، وللورقة فصان فص علوي **Ventral lobe** رفيع ذو حجم كبير نسبيا يوجد علي سطح الماء ويستعمل للطفو وهو خال من الكلوروفيل تقريبا، وفص سفلي **Dorsal lobe** سميك هوائى يحتوي علي كلوروفيل وبين الفصين وأعلي الفص السفلي للورقة يوجد تجويف بيضاوي يتصل بالجو عن طريق ثغر، والسطح الداخلى للتجويف مغطي بطبقة لزجة وفيها يتواجد الطحلب الأخضر المزرق المثبت للنيتروجين الذي يعيش مع السرخس معيشة تكافلية **Symbiont** ، كما يوجد في تلك المنطقة أيضا مع الطحلب أعداد قليلة من البكتريا مثل *Pseudomonas* وكذلك شعيرات ناقلة عديدة الخلايا وهذه الشعيرات كما يبدو فإنها وسيلة نقل نواتج التمثيل بين السرخس والطحلب.

تتكاثر الأزولا خضريا أو جنسيا بتكوين جراثيم من اتحاد الجاميطات المذكرة والمؤنثة. ويمكن أن تتواجد تلك السرخسيات في المناطق الشمالية والقطبية، ولكن معدل تثبيتها للنيتروجين سيكون محدودا لأن الحرارة المنخفضة تحد من عملية التثبيت.

والظروف المناسبة لنمو الأزولا هي توفر بيئة مائية لا يقل عمق الماء بها عدة سنتيمترات، ودرجة حرارة بين ٢٠-٢٨°م ، وتوفر أملاح الفوسفات والبوتاسيوم والحديد وتركيز أيون الأيدروجين في الوسط من ٦-٧ ، وارتفاع الرقم الهيدروجيني عن ٧ كما في الأراضى المصرية يسبب صعوبة الأزولا في امتصاص العناصر الغذائية ويعالج ذلك بإضافة العناصر الغذائية المطلوبة في صورة سماد.

ويعتبر النوع *Azolla pinnata* من الأنواع التي تتحمل الحرارة العالية والفوسفور اللازم لها في الماء في حدود ٠,٠٣ جزء في المليون، وتموت السيانوبكتريا عند درجة حرارة اقل من ٥°م أو أكثر من ٤٥°م كما أن ارتفاع الرطوبة النسبية يحد من نموه.

ويمكن تنمية الأزولا بنجاح في مشاتل مائية بتوفير الظروف المناسبة واستعمالها كلقاح في الأراضى المزروعة أرز ، حيث يقوم المتعايش الداخلى Endophyte symbiont وهو *Anabaena* بتثبيت النيتروجين الذي تستفيد منه نباتات الأرز وبذلك يوفر من عمليات التسميد الأزوتي.

ومن العوامل المحددة لانتشار الأزولا نسبة الملوحة بالوسط النامية به فنمو الأزولا يقل تدريجيا كلما زادت نسبة الملوحة فإذا وصلت النسبة إلي ١,٣-١,٥٪ فإن النمو يقف وإذا ما زادت النسبة عن ذلك فإن النبات يموت وعلي ذلك فإن نسبة الملوحة يجب أن تؤخذ في الاعتبار إذا ما أريد تنمية الأزولا بنجاح.

ومن حيث التمثيل الضوئى فإن الأزولا تحتوي علي كلوروفيل أ ، ب والنظام الضوئى ١ ، ٢ أما *Anabaena* المتعاون مع الأزولا فإنه يحتوي علي كلوروفيل A والنظام الضوئى رقم ١ ، كما أنه يحتوي علي الصبغة الزرقاء المميزة لتلك السيانوبكتريا وهي صبغة الـ Phycocyanin أما عن صبغة الأنثوسيانين الحمراء الموجودة بالأزولا فإنها تمتص جزءا من الضوء الذي يتعرض له النبات، وتحوله إلي حرارة، وبذلك تحمي جهاز التمثيل الضوئى الموجود بالنبات من الضرر الناتج عند التعرض لتركيزات عالية من الضوء. و *Anabaena azolla* الذي يوجد داخل نبات الأزولا، هو سلالة متخصصة لهذا النبات وهو يتبع:

Domain: Bacteria

Class:Cyanophycea

Phylum: Cyanobacteria

Order: Nostocales

Family: Nostocaceae

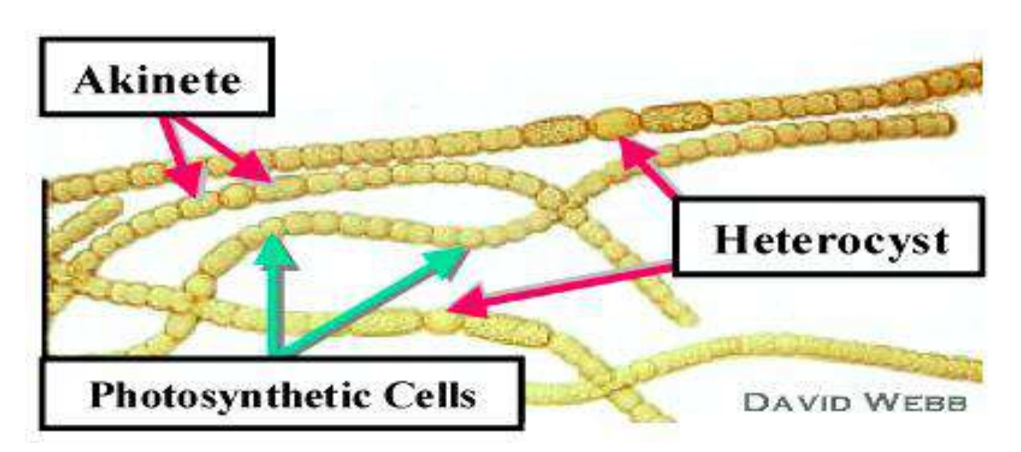
Genus : *Anabaena*

والطحلب يعيش داخل نبات الأزولا في شكل خيوط لزجة تملأ فجوات خاصة توجد علي سطح الفص السفلي لورقة الأزولا، وخيط الطحلب يتكون من خلايا برميلية الشكل وقطرها حوالى ٥ μm ويمكن تمييز ثلاث أنواع من الخلايا علي الطحلب:

١- خلايا خضرية وهي مراكز التمثيل الضوئى وتمثل حوالى ٦٠٪ من الخيط الطحلبى.

٢-خلايا **Heterocyst** وهي مراكز تثبيت الأزوت وتمثل حوالى ٣٠٪ من الخيط الطحلبى.

٣-خلايا **Akinetes** وهي خلايا ذات جدر سميكة تمثل مرحلة الجراثيم الساكنة بالطحلب **Resting spores** وتتكون من الخلايا الخضرية، وتمثل حوالى ١٠٪ من الخيط الطحلبي، ويتكاثر الطحلب بهذه الجراثيم أو بواسطة خيوط قصيرة تسمي **Hormogonia** تنبت من جراثيم **Akinetes** .



شكل ٢(٣)٧: موضع خلايا الهيتيروسيست في خيط الطحلب

ولأغراض الدراسة فإنه يمكن الحصول علي الطحلب خالياً من البكتريا المتعايشة معه باستعمال الأشعة فوق البنفسجية أو بالمعاملة الحرارية عند درجة ٤٧°م لمدة ١٠٠دقيقة، كما يمكن الحصول علي الأزولا الخالية من الطحلب **Algae free azolla** بتنمية الأزولا تحت ظروف بيئية قاسية من حيث البرودة، نقص الإضاءة، نقص العناصر الغذائية أو باستعمال المضادات الحيوية مثل البنسلين والإستربتوميسين.

ويمتاز ***Anabaena*** وهو داخل النبات عن الخلايا المشابهة الموجودة في الحالة الحرة بارتفاع نسبة محتواه من خلايا **Heterocysts** والتي تصل نسبتها إلي

حوالى ٣٠-٤٠٪ ، وبالتالى ارتفاع معدله في التثبيت النيتروجيني بشكل ملحوظ، وبذلك فإن ***Anabaena*** المتخصصة تعتبر ذو كفاءة عالية في عملية التثبيت الأزوتي التي وجد أنها تصل في المتوسط إلي ٢٥٠ كجم نيتروجين للفدان خلال ٤ شهور في موسم الأرز، وهي كمية تعادل نصف طن يوريا أو ١.٢٥ طن من سماد سلفات النشادر، وفوائد استعمال الأزولا في الأراضى المنزرعة أرزا معروفة منذ قرون طويلة في مناطق شرق وجنوب أسيا مثل اليابان والصين والفلبين وفيتنام كسماد أخضر وكمصدر أزوتي، حيث أنه بتلقيح الأراضى المغمورة بالماء المنزرعة أرز بالأزولا فإن تلك السرخسيات تنمو بسرعة مكونة طبقة نمو كثيفة علي سطح الماء وتثبت في أجسامها كميات كبيرة من النيتروجين، وعند تجفيف الأرز تجف تلك الطبقة من الأزولا وتموت وتتحلل وتغذى التربة بمخلفاتها الكربونية والأزوتية فتحسن من خواصها وتزيد من إنتاجيتها. ونظرا لأن نباتات الأزولا غنية في البروتين والمعادن، فإنه علاوة علي استخدامها كسماد عضوي بحقول الأرز، فإنها تستعمل أيضا كغذاء للحيوانات والطيور وفي عمل السماد العضوي الصناعي **Compost** بالمزارع.

انتقال النيتروجين المثبت من *Anabaena* إلي الأزولا

في غياب النيتروجين المرتبط فإن ***Anabaena*** يقوم بإمداد الأزولا باحتياجاتها النيتروجينية، ويتم ذلك أساساً علي صورة أمونيا مع قليل من الأحماض الأمينية وتتحول الأمونيا إلي أحماض أمينية في وجود الإنزيمات المتخصصة مثل : **Glutamine synthetase (GS), glutamate amino- transferase (GAT), glutamate dehydrogenase (GDH).**

طرق تقدير معدل النيتروجين المثبت في التربة

Methods for measuring N_2−fixation

يمكن تقدير كمية النيتروجين المثبت في التربة بواسطة الميكروبات باستخدام طرق تقليدية مثل تقدير الميزان النيتروجيني في التربة وذلك بحساب الفرق بين كمية النيتروجين المكتسبة بالتربة والكمية المفقودة منها ، وتحتاج هذه الطريقة إلي موسم زراعي كامل، أو بطرق حديثة مثل طريقة اختزال الأستيلين وطريقة استخدام النيتروجين المرقم $^{15}N_2$ ، وعموماً فإنه من الصعب تقدير كمية النيتروجين المثبتة في التربة باستخدام الطرق المعتادة التي تقدر الزيادة في النيتروجين، لأن الميكروبات المثبتة تقوم بعمليات التثبيت بصفة مستمرة وبكميات قليلة، ولكن المجموع العام للكمية المثبتة علي مدار السنة قد تكون كبيرة، ومما يزيد من صعوبة تقدير الزيادة في النيتروجين بالتربة نتيجة التثبيت هو أن نيتروجين التربة يتعرض لصور من الفقد متعددة مثل الفقد بالرشح والفقد بالتطاير، والذي يتبقى بالتربة هو محصلة الإضافة والفقد ومن هنا يجب تقدير الزيادة الناتجة عن التثبيت، وللتغلب علي تلك الصعوبات فتستعمل الأن طرق أخرى لتقدير كمية النيتروجين المثبتة بالتربة ومن تلك الطرق:

١ – اختزال مواد أخرى بخلاف النيتروجين

لإنزيم النيتروجينيز الذي يقوم باختزال غاز النيتروجين القدرة علي اختزال مواد أخرى بخلاف النيتروجين تركيبها من نوع $C\equiv C$, $C\equiv N$ ومن هذه المواد:

1. Acetylene $C_2H_2 \longrightarrow C_2H_4$
2. Nitrous oxide $N_2O \longrightarrow N_2$
3. Azide $NaN_3 \longrightarrow N_2 + HN_3$
4. Cyanide $HCN \longrightarrow CH_4$
5. Isocyanide $CH_3CN \longrightarrow CH_4$

وقد استخدمت هذه الخاصية لتقييم عملية التثبيت بدون تدخل عوامل التغيير التي تحدث في النيتروجين بالتربة، والطريقة حساسة جدا كما أن مستلزماتها أرخص ثمناً من تلك المطلوبة في حالة طريقة $^{15}N_2$.

أ) طريقة اختزال الأستيلين **Acetylene reduction technique**

بدأ استعمال هذه الطريقة منذ عام ١٩٦٦ في تقدير قدرة التربة أو الميكروبات علي تثبيت النيتروجين الجوي وأصبحت الأن من أكثر الطرق استخداماً لقياس نشاط إنزيم النيتروجينيز، وتتلخص الطريقة في أن تحقن العينة بغاز الأستيلين C_2H_2، ثم تحضن العينة علي درجة ٢٥-٣٥°م لمدة نصف إلي ساعة، بعد ذلك تقاس كمية الإيثيلين C_2H_4 المتكونة من غاز الأستيلين C_2H_2 بواسطة جهاز GLC Gas liquid chromatography وبذلك يمكن حساب كمية الإيثيلين التي تكونت في الساعة u moles C_2H_4/hr من المعادلة:

$$C_2H_4 \text{ sample Cu} \times \frac{\text{Vol gas in sample container}}{\text{Vol injected into GLC}} \times \frac{}{\text{Assay time (hr)} \times K}$$

− (minus)

$$C_2H_4 \text{ blank Cu} \times \frac{\text{Vol gas in blank container}}{\text{Vol injected into GLC}} \times \frac{}{\text{Assay time (hr)} \times K}$$

Where:

Cu: Chart units used to measure peak height.

Blank Sample container with added C_2H_2 only.

K: Conversion factor obtained using a standard C_2H_2 gas mixer to calibrate the GLC.

ويمكن مقارنة عمليتي الاختزال في حالتي النيتروجين والأستيلين كالأتي:

$$N \equiv N + 6H^{+} + 6e^{-} \longrightarrow 2\ NH_3$$

$$3CH \equiv CH + 6H^{+} + 6e^{-} \longrightarrow 3CH_2 = CH_2$$

وعلي هذا فإنه من الناحية النظرية فإن تثبيت جزئ N_2 يعادل ٣ جزيئات أستيلين، وعلي ذلك فبقسمة كمية الأستيلين المختزلة علي ٣ تنتج كمية النيتروجين المثبتة. ويلاحظ أنه قد يحدث في بعض التقديرات المعملية أن تصبح النسبة ٣ أستيلين إلي ١ نيتروجين غير صحيحة بسبب فقد بعض الإلكترونات في تكوين H_2 أو بسبب اختلاف كفاءة الميكروب المثبت في استخدام الأيدروجين المتصاعد. ولقد لوحظ ذلك مثلا في ريزوبيا فول الصويا حيث أن معامل تحويل C_2H_2 ليس ٣ :١ بل تتراوح بين ١–٤ :١ ، وكذلك في حالة الطحلب المتعايش مع الأزولا يتراوح معامل التحويل بين ٢–٥ :١، لذلك فإنه عند استخدام طريقة الاختزال يجب أن يوضع في الاعتبار العلاقة الصحيحة بين C_2H_2 المختزل إلي N_2 المثبت لعائل معين مع الميكروب الخاص به ويفضل أن تؤخذ المقارنات علي أساس كمية C_2H_2 وليس تحويلها إلى نيتروجين مثبت.

٢– استعمال النيتروجين المرقم $^{15}N_2$ tracer technique

يعتبر استخدام طريقة $^{15}N_2$ الطريقة التي تقيم بها الطرق الأخرى، كما أنه يمكن بواسطتها التأكد من قدرة ميكروب جديد علي تثبيت الأزوت، نظرًا لحساسيتها للكميات الصغيرة من النيتروجين الغازى المثبت ولدقتها في التقدير، كما أن هذه الطريقة تمتاز عن الطرق الأخرى في أنه يمكن عن طريقها تقدير كمية النيتروجين بالنبات سواء أكان مثبتاً من الهواء الجوي أو ناتجاً من الأسمدة المضافة أو من نيتروجين التربة أو من العمليات الزراعية الأخرى، وحديثاً أمكن استنباط طرق مناسبة يعرض فيها النبات لـ $^{14}CO_2$ مع $^{15}N_2$ لدراسة سلوك الكربون بالنبات بالنسبة للنيتروجين المثبت، ورغم مميزات طريقة $^{15}N_2$ إلا أنها ليست واسعة الانتشار لأن $^{15}N_2$ مرتفع الثمن كما أن الطريقة تستلزم وجود جهاز Mass Spectrometer المرتفع الثمن.

ومن المعروف أن للنيتروجين عدد ٦ مشابهات من $^{12}N_2$ إلي $^{17}N_2$، لكن المستعمل في التقدير هو $^{15}N_2$ وفي هذه الطريقة تحضن العينة في جو يحتوي علي $^{15}N_2$ لمدة ٦-١٢ ساعة في نهايتها يمكن بتتبع النيتروجين المرقم معرفة مدى عملية تثبيت النيتروجين بالتربة، كما يمكن معرفة الميكروب المثبت إذ أن تنميته في جو من $^{15}N_2$ فإنه سيمثله في بروتوبلام خلاياه، بعد معاملة العينة بالنيتروجين المرقم، تهضم بطريقة كلداهل ثم تقطر للحصول علي الأمونيا ويختبر العينة الناتجة لما تحتويه من $^{15}N_2$ باستخدام سبكترومتر وبذلك تقدر كمية النيتروجين المثبتة، وبالنسبة لتقدير كمية النيتروجين المثبت في نبات ما تستخدم طريقة $^{15}N_2$ علي نبات مثبت للنيتروجين وأخر غير مثبت (للمقارنة) وتقدر كمية النيتروجين المثبت من المعادلة التالية:

$$N_2 \text{ fixed } \% = \left(1 - \frac{\%\ ^{15}N \text{ atom excess in fixing plant}}{\%\ ^{15}N \text{ atom excess in non-fixing plant}}\right) \times 100$$

٣- تقدير الأمونيا الناتجة من عملية التثبيت

وفي هذه الطريقة تنمي الميكروبات في أنابيب صغيرة مقفلة بها غاز النيتروجين، وبعد عملية التثبيت يؤخذ المستخلص الخالى من الخلايا ويقدر به الأمونيا المتكونة نتيجة عملية التثبيت باستخدام الطرق اللونية، وتعتبر هذه الطريقة سهلة وسريعة ولكن يعاب عليها أن كمية الأمونيا المقدرة قد تكون اقل من المثبت فعلا لدخولها في تكوين أحماض أمينية، ولمنع تحويل الأمونيا المثبتة داخل الخلايا إلي أحماض أمينية تستعمل مادة Methionine sulphoximine المثبط للنظام الإنزيمي Glutamine synthetase & glutamate synthetase وبذلك يمكن تقدير كل الأمونيا الناتجة من عملية التثبيت.

ميكانيكية تثبيت النيتروجين الجوي

Mechanism of nitrogen fixation

أوضح كثير من الباحثين أن تثبيت الأزوت الجوي بواسطة الميكروبات غير العائشة بالاشتراك مثل الأزوتوباكتر تشبه إلي حد كبير ميكانيكية التثبيت بواسطة الميكروبات العائشة بالاشتراك مثل الريزوبيا، ولقد وجد أن H_2 ، CO_2 يثبطان من عملية التثبيت كما أن التثبيط يحدث أثناء تكاثر الميكروبات، وقد ساعد استخدام كل من نظير النيتروجين$^{15}N_2$ وطريقة اختزال الأسيتلين في تفهم نظام تثبيت النيتروجين سواء من الميكروبات التكافلية أو اللاتكافلية.

نظريات تثبيت النيتروجين

من المعروف أن غاز النيتروجينN_2 غاز خامل لا يدخل في التفاعلات الكيماوية بسهولة، ولتثبيته تحت الضغط والحرارة العادية في النباتات بواسطة الميكروبات فإن ذلك يحتاج إلي تنشيطه، وهذا التنشيط يحتاج إلي إنزيم أو مجموعة إنزيمية متخصصة يطلق عليها اسم **Nitrogenase** وهذا الإنزيم موجود في الميكروبات المثبتة لنيتروجين الهواء الجوى، ويعمل الإنزيم علي تنشيط النيتروجين واتحاده مع الأيدروجين علي خطوات حتى تتكون الأمونيا كناتج أساسى لعملية تثبيت النيتروجين، وقد أمكن عزل ذلك الإنزيم عام ١٩٦٠ م من ***Clostridium pasteurianum*** وفي عام ١٩٧٥م حيث عزل من ٢٥ ميكروب مثبت لأزوت الهواء الجوي من بينها بكتريا الريزوبيا.

تركيب إنزيم النيتروجينيز

يتكون الإنزيم من جزئين بروتينيين **Binary enzyme** كلاهما أساسى لقيام الإنزيم بعمله ، ولا تتم عملية اختزال N_2 إلا في وجود الجزئين معاً.

١- الجزء الصغير

Fe-protein (iron protein), Dinitrogenase reductase

هذا الجزء به حديد ولا يحتوي علي الموليبدنم، ووزنه الجزيئى صغير يتراوح ما بين ٥٠ إلي ٧٠ ألف دالتون، وهو حساس جدا للأكسجين حيث يفقد ٧٠٪ من نشاطه

بتعرضه للهواء لمدة دقيقة واحدة، وهو حساس للبرودة **Cold labile**، ويتكون من وحدتين **Subunits** متشابهتين تماماً ويحتوي كلٍ منهما علي ٤ ذرات حديد **Fe** ، ٤ مجموعات من **HS** وهو مشابه للفيرودوكسين **Ferrodoxin** .

٢- الجزء الكبير

Fe-Mo-protein (iron -molybdenum protein), Fe- Mo, Co, Dinitrogenase

يدخل في تركيبه كل من الموليبدنم والحديد بنسبة ٢٠ :١ وله وزن جزيئى يتراوح ما بين ١٠٠ إلي ٣٠٠ ألف دالتون، وهو أقل حساسية للأكسجين من الجزء الصغير وليس بحساس للبرودة، وهو يتكون من وحدتين إلي أربع وحدات واختلاف الوزن الجزيئى للإنزيم يعود إلي اختلاف الميكروب المعزول منه .

وفي جميع الخلايا الميكروبية المثبتة للنيتروجين فإن إنزيم النيتروجينيز وجد في غشاء الخلية وهو حساس جدا للأكسجين غير أنه في حالة طحلب الجليوكابسا فإنه يوجد في أماكن خاصة داخل الخلية محاطاً بما يشبه الأغشية التي تحميه من الأكسجين.

ميكانيكية عمل الإنزيم **Mechanism of enzyme action**

الإنزيم حساس للأكسجين إذ أنه يتلف عندما يتعرض له، لذلك فهو يعمل في جو مختزل PO_2 من ٠,٠١ إلي ٠,٢ ضغط جوي ، ويقوم الإنزيم بتنشيط واختزال النيتروجين إلي أمونيا.

$$N_2 \longrightarrow N \equiv N \xrightarrow{6H^+} 2NH_3$$

كما أن للإنزيم القدرة علي اختزال بعض الجزيئات ذات الروابط الثلاثية مثل الأستيلين $CH \equiv CH$ إلي إيثيلين $CH_2 \equiv CH_2$ ، وكذلك اختزال أيونات الأيدروجين إلي أيدروجين غازي $(H^+ \rightarrow H_2)$.

ويقوم الإنزيم بتحويل **ATP** إلي **ADP** ويستخدم الطاقة الناتجة في عملية التثبيت، ونظرًا لأن تثبيت جزئ N_2 يحتاج إلي ١٥ جزئ **ATP** فإن الإنزيم يحتاج

إلي كمية كبيرة منATP كمصدر للطاقة وأيضاً إلي مصدر لعملية الاختزال أى مصدر للإمداد بالأيدروجين والإلكترونات وإضافة إلي ذلك فإن الإنزيم يحتاج أثناء نشاطه إلي الماغنسيوم Mg^{++}.

الجزء الصغير من الإنـزيم يرتبط بالـ ATP, Mg لتوليد الطاقة اللازمة لاختزال النيتروجين في الجزء البروتيني الأخر، وأثناء عملية تثبيت النيتروجين يلعب الحديد في كلا جزئى الإنـزيم دورا فـي نقل الإلكترونـات اللازمـة لعمليات الأكسدة والاختزال، وتفاعل اختزال النيتروجين إلي أمونيا تمثله المعادلة التالية:

$$N_2 \rightarrow N \equiv N \xrightarrow[\text{nATP}]{+6H^+ + 6e^-} 2NH_3 + nADP + Pi$$

ويمكن توضيحه بالتفاعلين الأتيين:

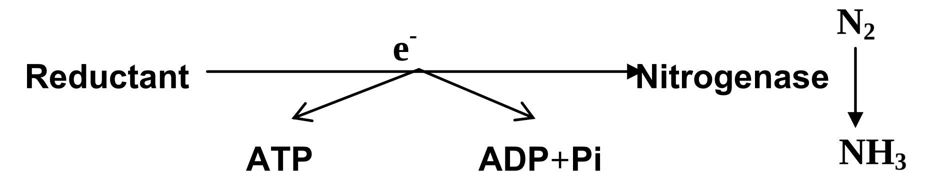
١ – تكوين الإلكترونات

$$ATP + reductant\ (H_2) \rightarrow ADP + Pi + e^-$$

٢ – اختزال مادة التفاعل

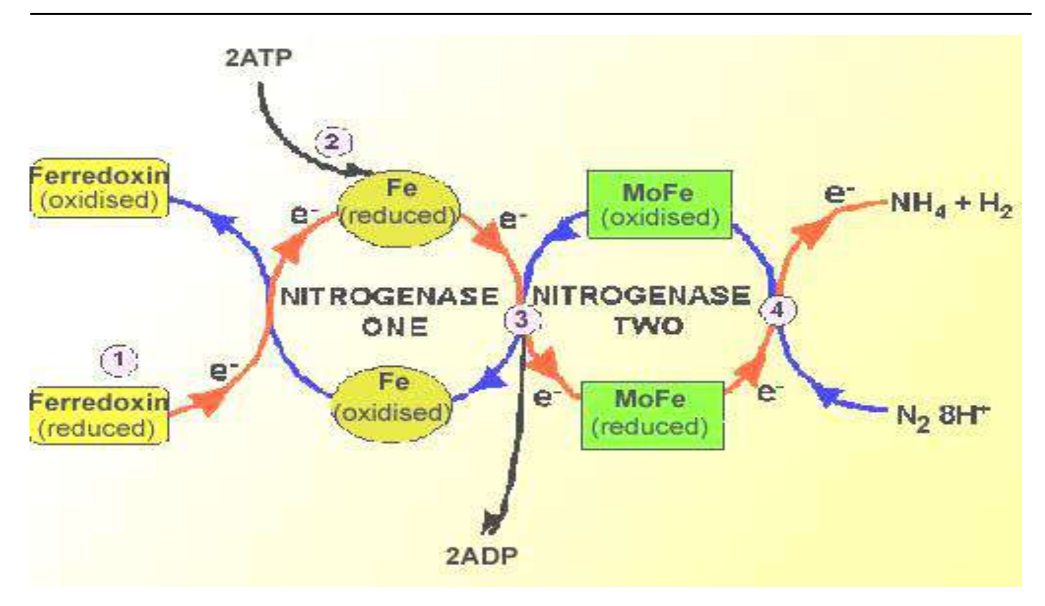
Reducible substrate (e.g. N_2, C_2H_2) → Reduced products

يدخل الإلكترون في عملية الاختزال النيتروجيني كما يلى:



والطاقة ATP اللازمة لنشاط الإنزيم تتولد بتركيزات مناسبة مع نشاطه، وإلا فإن زيادتها يحد من نشاط الإنزيم، وقد ثبت هذا من التجارب المعملية التي أجريت علي مستخلص خلايا الطحالب الخضراء المزرقة، ووجد أن الطاقة اللازمة لنشاط الإنـزيم تنساب بالتركيزات المناسبة من تحول الفوسفوكرياتين إلي كرياتين بإنزيمCreatine phosphokinase حسب المعادلة التالية:

$$\text{Creatine phosphate} \xrightarrow[\text{Creatine phosphokinase}]{ADP + \quad ATP} \text{Creatine}$$



شكل ٢(٣)٧: طريقة عمل إنزيم النيتروجينيز

الاحتياجات اللازمة لعملية تثبيت النيتروجين

تتطلب عملية تثبيت النيتروجين توفر الاحتياجات الأساسية التالية:

١- إنزيم النيتروجينيز بالميكروب.

٢- مصدر الطاقة ATP.

٣-مصدر القوة الاختزالية.

٤-نظام لحماية إنزيم النيتروجينيز من التثبيط بأكسجين الهواء الجوي.

٥-الإزالة السريعة لنواتج تثبيت النيتروجين من الموقع الذي يتم فيه التثبيت بالميكروب إلي خلايا النبات العائل، وذلك في حالة المعيشة التعاونية وإلا فإن تراكم نواتج التثبيت بالميكروب تؤدي إلي تثبيط إنزيم النيتروجينيز.

توفير الميكروب للوسط المختزل للإنزيم أثناء عملية التثبيت

إنزيم النيتروجينيز حساس للأكسجين ولكى يقوم بعملية تثبيت النيتروجين الجوي يلزم توفير وسط مختزل له، توفير الوسط المختزل بإبعاد الأكسجين لا يمثل مشكلة بالنسبة للميكروبات المثبتة اللاهوائية مثل *Clostridium* والاختيارية مثل *Klebsiella, Enterobacter* والممثلة للضوء مثل *Rhodospirillum*، حيث

أن هذه الميكروبات تستطيع بطبيعة نظامها الفسيولوجي أن تعمل في وسط لاهوائى وبذلك يبقى مستوي الأكسجين منخفضاً في الوسط الدقيق المحيط بعملية التثبيت.

أما الميكروبات الهوائية فإنها تلجأ إلي وسائل عديدة لتوفير الوسط المختزل اللازم لعملية التثبيت منها:

١- ميكروبات الأزوتوباكتر تمتاز بمعدل تنفسها العالى إذا ما قورنت بباقى الميكروبات لإنتاج الـ ATP وزيادة استهلاكها للأكسجين، وبذلك يصبح أحد أهداف التنفس الهوائى بهذه الميكروبات عمل ما يسمي بحماية تنفسية لحماية إنزيم النيتروجينيز من الأكسجين الجوي، حيث يتم إزالة الأكسجين من حول مراكز تثبيت النيتروجين بمعدل التنفس العالي، بالإضافة إلي ذلك فإن بروتين إنزيم النيتروجينيز في خلايا الأزوتوباكتر بالذات يتميز بأن له خاصية القدرة علي التغيير في الشكل الفراغي وهذا يعني أنه عند وجود الأكسجين يتغير التركيب الفراغي لبروتين الإنزيم ويفقد قدرته علي التثبيت وبغيابه فإن الإنزيم يعود إلي نشاطه المعتاد.

٢- بالنسبة لل *Beijerinckia & Derxia* فإنها تحيط نفسها بطبقة لزجة سميكة تعوق دخول الزيادة من الأكسجين.

٣- في حالة ميكروب الـ *Azospirillum* وهو هوائى فإنه يثبت النيتروجين تحت ظروف Microaerophilic عند PO_2 أقل من ٠,٠١ جوي، ورغم ذلك فقد لوحظ أن الأزوسبيريللام المتعايش مع جذور قصب السكر يثبت النيتروجين تحت ظروف هوائية ويتم ذلك بعد حدوث تغير في شكل الميكروب من الشكل الواوى إلي الشكل الكروى، وتتميز بكتريا الأزوسبيريللام ذات الشكل الكروي عن تلك ذات الشكل الواوى في أن لها كبسول من Lipo-polysaccharide تحيط بميكروب أو أكثر تحد من حركته، بالإضافة إلي أن البكتريا الكروية الشكل تحتوي علي المادة المخزنة PHB بكمية أكبر عما يوجد عادة في البكتريا ذات الشكل الواوى ويعتقد أن هذا الكابسول يعطي حماية لإنزيم النيتروجينيز من أكسجين الهواء الجوي.

٤- أما بالنسبة للطحالب الخضراء المزرقة فإن هناك من الشواهد ما يوضح بأن إنزيم النيتروجينيز يوجد في خلايا خاصة بالطحلب تسمي Heterocyst ، وهي لا تحتوي علي كلوروفيل خلاف الخلايا الخضرية الأخرى الموجودة بالطحلب والتي تقوم بعملية التمثيل الضوئى الخاصة بأخذ CO_2 وإخراج O_2، وبذلك فإن Heterocyst الطحلب يوفر لإنزيمات التثبيت البعد عن أماكن إنتاج الأكسجين، أما الطحالب الخضراء المزرقة المثبتة للنيتروجين ولا تحتوي علي هيتيروسيست فإنها تحيط الإنزيم بما يشبه الأغشية التي تحميه من الأكسجين.

٥- في حالة البكتريا العقدية نجد أن الميكروب يثبت النيتروجين وهو في طور البكتيرويد داخل العقدة الجذرية الفعالة، هذه العقد تحتوي علي صبغة حمراء من الهيموجلوبين وتسمي Leghaemoglobin وهي تقوم بعمل المحلول المنظم buffer بالنسبة للأكسجين حول الميكروب المثبت بالعقدة الجذرية، فتتحد الصبغة بالأكسجين عند تراكمه وتحرره منها بالكميات المناسبة لعمليات التمثيل الغذائى الأخرى.

٦- رغم أن PO_2/Kpa الأمثل للتثبيت في حالة الريزوبيا هو ١ ., أو اقل من ذلك، إلا أنه في حالة الفرانكيا يصل إلي ٥ ., ٠ والسبب في أن الفرانكيا تثبت الأزوت عند هذا المعدل المرتفع يعود إلي النظام الإنزيمي الخاص بالتثبيت يقع في الأوعية Vesicles (إنتفاخات بالهيفا تشبه الهيتروسيست بالسيانوبكتريا). هذه الأوعية محاطة بميتوكوندريا العائل والتى تسحب الأكسجين لأنها مراكز التنفس وتوفر جو خالى من الأكسجين، وبذلك يتوفر للجهاز الإنزيمي المثبت ضغط منخفض من الأكسجين PO_2، بالإضافة إلي ذلك فإن ارتفاع معدل التمثيل بالأوعية يساعد أيضا علي خفض PO_2 بها.

توفر هذه الظروف بالفرانكيا يفسر قدرتها علي تثبيت الأزوت حتى في الجو العادي، ويوضح أيضا أن هيموجلوبين عقد الفرانكيا الجذرية حتى وأن وجد لا دور له في عملية تنظيم الأكسجين بالعقدة بعكس ما يحدث في حالة الريزوبيا.

منظمات عمل الإنزيم Regulators

يقوم الإنزيم أثناء نشاطه بتحويل ATP → ADP

لذلك فإن نسبة ATP : ADP حول الإنزيم تحدد إلي أى مدي سيكون معدل عمل الإنزيم، وبالإضافة إلي ذلك فإن الأمونيا وهي الناتج الوسطي الأساسي الهام لعمل الإنزيم تحدد معدل نشاطه، إذ أنه إذا ما تكونت كمية من الأمونيا أكبر من حاجة الميكروب فإنه تثبط عمل الإنزيم، كما أن الماغنسيوم والأيدروجين والموليبدنم ينظمان عمل الإنزيم.

ويثبط من نشاط الإنزيم ارتفاع ضغط الأكسجين PO_2 في الأرض عن ٢ ,.. ضغط جوي أو إضافة نيتروجين مرتبط كما هو الحال في السماد النيتروجيني.

الأمونيا كمركب وسطى

لقد أمكن إثبات أن الأمونيا هي المركب الوسطي الأساسي الذي يتكون أثناء عملية التثبيت من الشواهد الأتية:

١) عند استخدام نظير النيتروجين^{15}N فإنه يظهر بعد فترة قصيرة في هذه الميكروبات في مركب الأمونيا.

٢) وجد أنه عند إمداد هذه الميكروبات بالأمونيا بدلا من غاز النيتروجين فإن الأمونيا تمثل بدون فترة تحضيرية Lag period.

٣) اتضح باستخدام نظير النيتروجين^{15}N أن الحمض الأميني الأول الذي يظهر فيه هذا النظير هو حمض الجلوتاميك Glutamic acid وعند إمداد الميكروبات بالأمونيا المحتوية علي ^{15}N بدلاً من النيتروجين الجوي فإن النظير ^{15}N أول ما يظهر يكون أيضاً في حمض الجلوتاميك.

٤) عند إمداد الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي بالأمونيا فإن عملية التثبيت تتوقف.

أما من حيث المركبات الوسطية التي تتكون عند تحويل نيتروجين الهواء الجوي إلي أمونيا بفعل إنزيم النيتروجينيز فكان يعتقد تكون المركبات التالية:

$$N_2 \xrightarrow{2H^+} NH = NH \xrightarrow{2H^+} NH_2 - NH_2 \xrightarrow{2H^+} 2NH_3$$

Diamide Hydrazine Ammonia

ولكن الاتجاه الأن يرجح أن الإنزيم يتحد مع N_2 ثم يختزل المركب الناتج تدريجياً إلي أن تنفرد في النهاية الأمونيا حسب المعادلة:

$$N_2 \rightarrow N \equiv N + Enzyme\ (E) \xrightarrow{H_2} E - N{=}NH \xrightarrow{H_2} E{-}NH{-}NH_2 \rightarrow E + 2NH_3$$

والأمونيا الناتجة من التثبيت عامل مثبط لنشاط النيتروجينيز، وهي لا تتجمع داخل الخلية الميكروبية ولكنها إما أن تنساب إلي خارج الخلية كما يحدث في بعض الحالات، أو وهذا هو الأغلب تتحول إلي أحماض أمينية باتحادها مع الأحماض العضوية بالخلية.

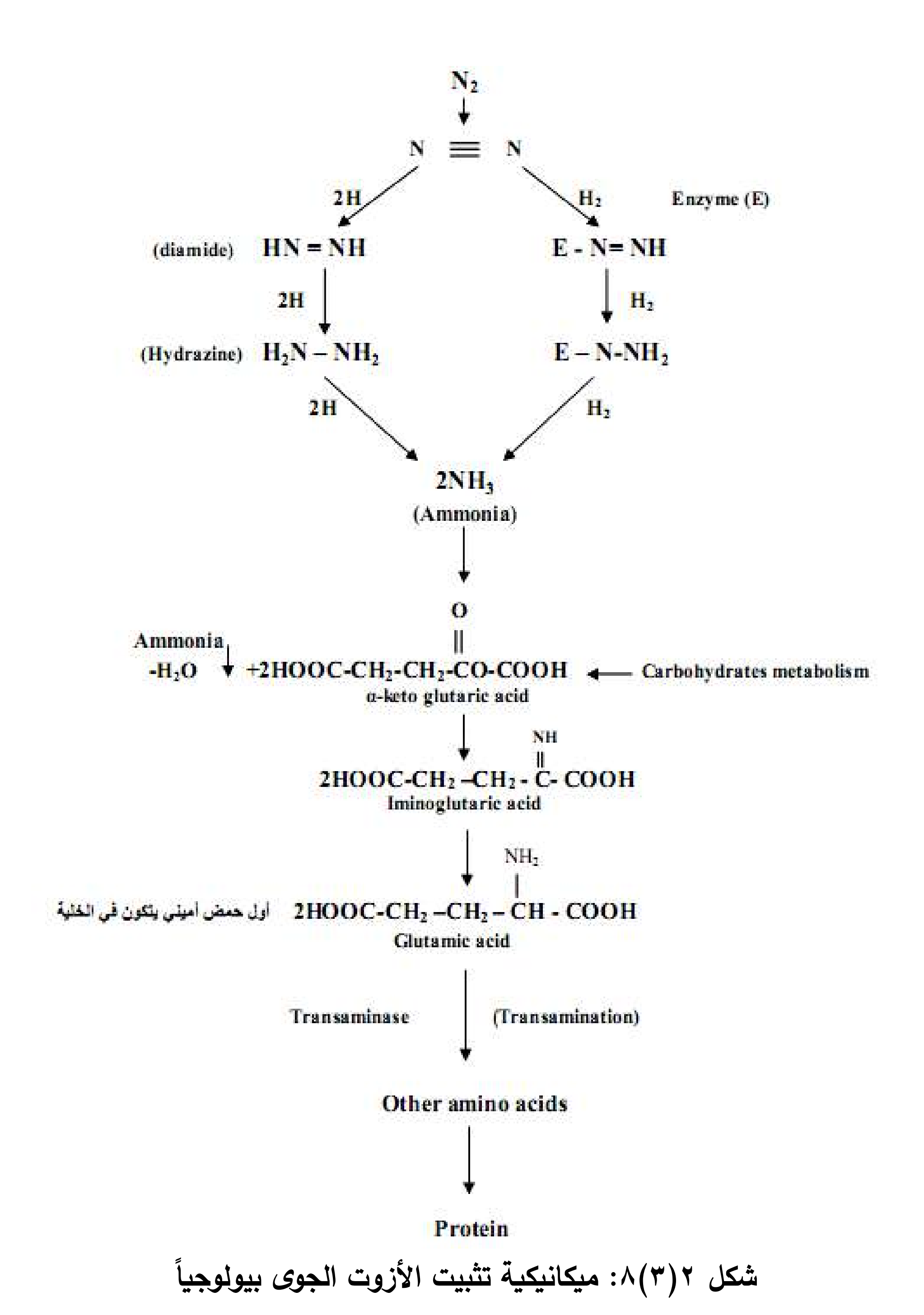
ومن المعروف أن حمض الجلوتاميك والأسبارتيك يعتبران من أوائل الأحماض الأمينية التي تتكون في عملية التثبيت النيتروجيني ومن هذين الحمضين تكون باقى الأحماض الأمينية عن طريق نقل مجاميع الأمين Transamination إلي الحمض الكيتوني المناسب.

كما يعتبر تكون الجلوتامين Glutamine من الأمونيا ثم استخدام مجموعة الأمين من هذا المركب لتكوين مختلف الأحماض الأمينية، أحد الوسائل الأساسية لتكوين الأحماض الأمينية المطلوبة لبناء البروتين في خلايا الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي ويمكن توضيح خطوات عملية تثبيت النيتروجين الجوي كمايلى:

وقد علل تثبيت الميكروبات غير الهوائية مثل الكلوستريديا كنتيجة للاختزال المباشر للنيتروجين إلي أمونيا بواسطة الأيدروجين الذرى.

$$N \equiv N \xrightarrow{6H} 2NH_3$$

والظاهر أن الإنزيمات الخاصة بالتثبيت في الكلوستريديا تخالف الإنزيمات الخاصة بالعملية المذكورة في الميكروبات الهوائية، فبينما نجد أن عملية التثبيت تقف في الأخيرة في وجود الأمونيا أو الأيدروجين أو CO_2 نرى أنه في حالة الكلوستريديا لا تتأثر العملية بمثل هذه المواد.



شكل ٢(٣)٨: ميكانيكية تثبيت الأزوت الجوى بيولوجياً

العامل الوراثي المثبت للنيتروجين

Genetic factor of dinitrogen fixation

لفتت الطريقة التي تثبت بها كائنات البروكاريوتا النيتروجين الجوي نظر كثير من الباحثين، ولقد وجد أن العامل الوراثي المسئول عن عملية التثبيت بتلك الكائنات هو Nitrogenn fixation gene (Nif^{+} gene) ، ويحمل هذا العامل جزء من الـ DNA الموجود بكروموسوم الخلية البكتيرية، وقد أمكن نقل هذا العامل الوراثي من ميكروب لأخر بواسطة العبور باستخدام Phage P_1 (Transduction) كما فعل (Steicher, 1971) أو بواسطة التزاوج (conjugation) كما فعل (Postgate, 1972).

وتركيب Nif^{+} gene متشابه إلي حد كبير سواء في الميكروبات الهوائية أو اللاهوائية المثبتة للنيتروجين بالمعيشة اللاتكافلية أو التكافلية، حيث تشمل هذه الجينات Nif H وهو المسئول عن تنظيم تخليق Nif D, fes protein وهو ينظم جزء الألفا α –subunit من الجزء البروتيني FeMo protein أما الـ Operon فهو المسئول عن تنظيم تخليق البيتا β– subunit والجينات الثلاثة السابقة توجد بنفس الترتيب في الـ Operon في جميع الميكروبات وهو HDK وكذلك Nif E وهو المسئول عن التخليق الحيوي لـ FeMo Cofactor والـ Nif S هو المسئول عن تنشيط الكبريت في الجزء البروتيني المحتوي عليه و Nif W وهو ضروري لتنشيط جزئ FeMo protein ووصوله لكامل نشاطه بينما Nif X لم تكتشف وظيفته بعد والـ Nif A وهو منظم بين Nif genes وبعض الجينات الأخري مثل تلك المسئولة عن تخليق الجلوتامين، ولقد تم التعرف علي حوالي ٢٠ نوع من هذه الجينات باستخدام ميكروب *K. pneumonia* أما جينات تثبيت النتروجين بطريقة تعاونية Symbiotic فهي تقسم إلي:

١- Nif genes ٢- Fix genes ٣- Nod genes

وكما سبق فإن الـ Nif genes في مثبتات أزوت الهواء الجوي سواء تكافلية أو لا تكافلية متشابهة، أما الـ Fix genes فهي مجموعة الجينات

الضرورية لتثبيت النيتروجين ولكن ليس لها مشابهات في مجموعة الجينات التي عزلت من ميكروب *K. pneumonia* ، وهذه المجموعة من الجينات (Fix- genes) فإن الأبحاث ما زالت جارية عليها وعندما تعرف وظيفتها بالتحديد فسوف توضع في المجموعة التابعة لها، وفي مجموعة الريزوبيا فإن الجينات الضرورية لإصابة النباتات البقولية أو غير بقولية وتكوين عقد جذرية عليها.

وفي السنوات الأخيرة أصبح واضحا أن عمل الـ Nod genes الرئيسي هو تأكيد عملية نقل المعلومات الوراثية بين شركاء تبادل المنفعة ، ففي الخطوة الأولي فإن مركبات الـ Flavonoids المفرزة بواسطة جذور النبات تحث بالتعاون مع المنشط Nod D protein علي نسخ Nod genes في البكتريا، وفي الخطوة الثانية تنتج البكتريا عن طريق Structural Nod genes مادة Lipo-oligosaccharides وهي عبارة عن الإشارات signals لبدء تكوين العقد وتسمي هذه المواد عوامل التعقيد Nod factors وبذلك يحدث رد فعل علي الجذور في أشكاله المختلفة، وتقسم الـ Nod genes إلي مجموعتين هما المجموعة المشتركة أو الـ Common وكذلك المجموعة المتخصصة للعوائل المختلفة Host specific Nod genes، الجينات المشتركة Common genes وتشمل Nod ABC genes وجدت في مجموعة الـ Rhizobia وسميت كذلك لأنها من ناحية التركيب أو الوظيفة مشتركة في مختلف عوائل المجموعة السابقة وهي تمثل جزء من Operon مفرد.

وتثبيط الـ Nod ABC تغير من قدرة الميكروب علي المعيشة التعاونية مع النبات مثل انحناء الشعيرات الجذرية وتكوين خيط العدوي وانقسام خلايا القشرة الخارجية Cortical وطريقة العدوي.

أما المجموعة الثانية لـ Host specific Nod genes فهي ليست متشابهة في التركيب أو الوظيفة بين أفراد مجموعة الريزوبيا Rhizobia وهي ضرورية لتكوين العقد علي جذور العوائل الخاصة لكل مجموعة، وتثبيط بعض أو كل هذه المجموعة من الجينات قد يغير عملية العقد علي جذور بعض العوائل الداخلية

في نطاق المجموعة النباتية الواحدة وNodule specific genes وتسمي أيضا Nodulins وتقسم إلي :

١- Early nodulins وهي تعمل في أثناء غزو الجذور ونضج العقد الجذرية.

٢- Late nodulins وهذه تعمل أثناء تثبيت النيتروجين وهي تشمل الإنزيمات الهامة في تصريف النيتروجين المثبت وكذلك التحكم في الصبغات الموجودة داخل العقد الجذرية.

وفي السنوات الأخيرة تجري محاولات مستمرة لنقل العامل الوراثي المثبت للأزوت من الميكروبات المثبتة إلي غير المثبتة وكذلك من الميكروبات المثبتة إلي كائنات أكثر رقياً كالنباتات الراقية أو محاولة جعل بكتريا الريزوبيا تتعايش مع جذور النجيليات وتثبت الأزوت في حالة تعاونية.

فقد تمكن Postgate من نقل هذا العامل من كائنات مثبته للنتروجين مثل nif donor *Klebsiella pneumoniae* إلي الأخري غير المثبتة مثل *E. coli* وبذلك اكتسبت *E. coli* صفة تثبيت النتروجين الجوي تحت الظروف اللاهوائية وبمثل هذه التجارب وبغيرها من التجارب الوراثية الأخري وتجارب إحداث الطفرات فقد أمكن معرفة العوامل الوراثية المتحكمة في إنزيم النيتروجينيز والمؤثرة في عملية التثبيت عموماً بما في ذلك العدوي بالميكروب، والعلاقات التعاونية في حالة البكتريا العقدية وعموما فإن الاحتياجات الأساسية لإتمام عملية تثبيت النتروجين الجوي تتطلب الأتي:

١- وجود Nif- gene بالميكروب.

٢- توفر ظروف لا هوائية لإنزيم النيتروجينيز.

٣- توفر مصادر طاقة في صورة ATP.

٤- وجود مصدر للمادة المختزلة Reductant.

٥- توفر نظام في حالة المعيشة التعاونية لنقل المواد المختلفة من وإلي الخلايا المحتوية علي النيتروجينيز مثل:

أ- وجود منافذ Pores بين خلايا الطحلب الخضرية الممثلة للضوء وخلايا Heterocyst المثبتة للأزوت.

ب- اتصال الميكروب المثبت بالجهاز الوعائي الناقل للنبات العائل وذلك كما في حالة بكتريا العقد الجذرية في النباتات البقولية وغير البقولية عن طريق الحزم الوعائية الثانوية.

ج- وجود تحورات بيوكيميائية في كل من الميكروب المثبت والنبات العائل كما في حالة الأشنات تجعل العائل يستفيد من الأزوت المثبت، وذلك كما في حالة نشاط الإنزيمات المثبتة للأمونيا بالطحلب مثل إنزيمات Glutamic synthetase, Glutamic dehydrogense ، وازدياد نشاط هذه الإنزيمات بالنبات العائل يجعله يستفيد من الأزوت المثبت.

د- وجود شعيرات ناقلة لنواتج التمثيل الغذائي ما بين الطحلب والسرخس كما يحدث في حالة المعيشة التعاونية ما بين الأزولا والطحلب.

نقل العامل الوراثي المثبت للأزوت إلي النباتات الراقية

تجري محاولات لنقل العامل الوراثي المثبت للأزوت من الميكروبات إلي كائنات أخري أكثر رقياً كالنباتات الراقية، وحتى الأن فان هذه العملية يقابلها مجموعة من الصعوبات من ذلك:

١- يتحكم في العامل المثبت للأزوت ١٨ جين علي الأقل، ومن الصعب نقلها جميعاً بكفاءة عالية.

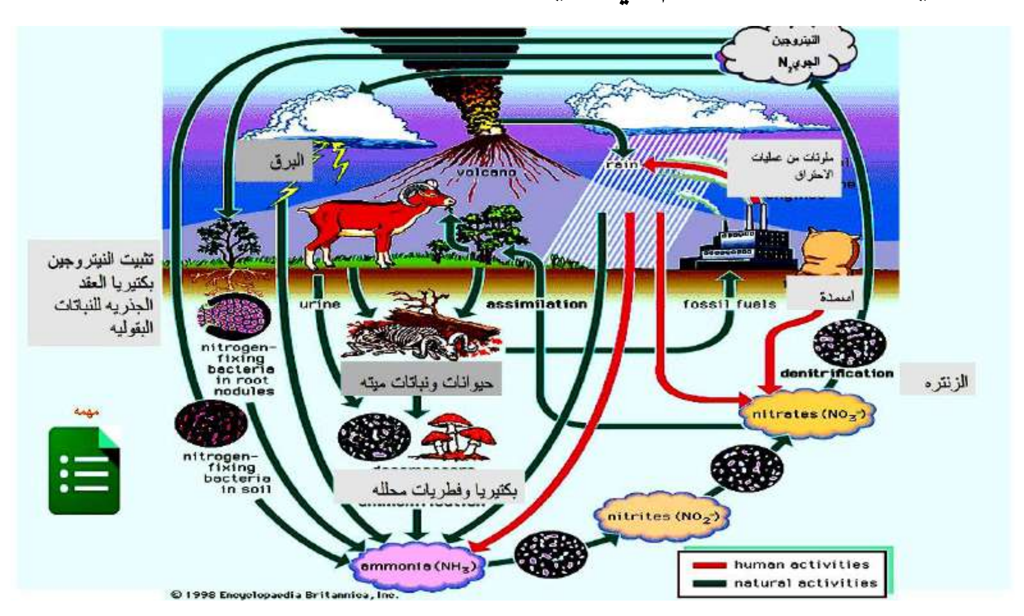
٢- بالإضافة إلي ذلك فأن الأمر يتطلب أيضاً نقل الجينات المنظمة لعملية التثبيت Regulators مثل تلك المنظمة لإفراز إنزيم Glutamic synthetase.

٣- صعوبة نقل الجينات اللازمة جميعا إلي موقعها المناسب تماما في الخلية الجديدة.

وتزداد هذه العملية صعوبة عند محاولة جعل بكتريا الريزوبيا تتعايش مع جذور النجيليات وتثبيت الأزوت في حالة تعاونية، لأن ذلك سيتطلب إيجاد عوامل وراثية جديدة بالنبات النجيلي لم تكن موجودة من قبل منها علي سبيل المثال:

١- توفير ١٥٠ جين علي الأقل وهي المرتبطة بتثبيت الأزوت في الحالة التعاونية.

٢-توفير الجينات الخاصة بتكوين **Leghaemoglobin** اللازمة للبكتريا في طور البكتيرويد وهذه الجينات يتحكم في تكوينها النبات العائل.



شكل ٢(٣)٩ : رسم تخطيطى يوضح التحولات المختلفة في دورة النتروجين

(الباب الثالث- الفصل الأول)

التحولات الميكروبية لمركبات الفوسفور فى التربة الزراعية

يوجد الفوسفور في التربة والنباتات والكائنات الحية الدقيقة في صورة عديد من المركبات العضوية وغير العضوية، والفوسفور عنصر غذائى هام يلي عنصر النيتروجين مباشرة من حيث احتياج كل من النباتات والكائنات الحية الدقيقة، ولهذا العنصر دورا فسيولوجياً رئيسياً في عدد من العمليات الهامة المتعلقة بتراكم الطاقة وانطلاقها خلال عمليات التمثيل الغذائى فى الخلايا الحية، يمكن أن يضاف هذا العنصر إلي التربة في صورة أسمدة كيميائية معدنية أو عضوية، كما يمكن لعنصر الفوسفور أن يختلط مع التربة والذى ينتج من أوراق الأشجار أو مخلفات النبات أو بقايا الحيوانات بعد تحليلها ، ولذلك فإن عنصر الفوسفور يمثل وضعا هاماً بالنسبة لنمو النباتات وأيضاً بالنسبة للعمليات الحيوية فى التربة.

تقوم الكائنات الحية الدقيقة بعدد من التحولات الحيوية لهذا العنصر كمايلى:

(أ) تعمل الكائنات الحية الدقيقة علي ذوبان مركبات الفوسفور المعدنية غير الذائبة من خلال عملية إذابة مركبات الفوسفور.

(ب) تعمل الكائنات الحية الدقيقة على معدنة المركبات العضوية مع إنتاج الفوسفات المعدنية.

(جـ) تعمل الكائنات الحية الدقيقة علي تحويل الفوسفات الميسرة غير العضوية إلي مكونات خلوية وذلك بتمثيلها بطريقة مشابهة لما يحدث بالنسبة لعنصر النيتروجين Immobilization.

(د) قيام الكائنات الحية الدقيقة بأكسدة أو اختزال المركبات الفوسفورية غير العضوية، وتعتبر التفاعلات المؤدية إلي معدنة أو تمثيل مركبات الفوسفور من أهم الخطوات التي تتم في دورة الفوسفور في الطبيعة، الفوسفور العضوي في التربة تتراوح نسبته بين ٢٥ - ٨٠٪ من الفوسفور الكلي بها.

والفوسفور في الصورة المعدنية يكون في صورة فوسفات مرتبطة بالكالسيوم أو الحديد أو الألومنيوم ويعتمد ذلك على pH التربة، ففي الأراضي القاعدية تتحول فوسفات الكالسيوم الأحادية إلى فوسفات ثلاثية غير ذائبة $Ca_3(PO_4)_2$ وتترسب مما يجعلها أقل صلاحية للنباتات ولكن بالرغم من أنها تترسب في صورة غشاء رقيق حول حبيبات التربة فإن لها سطح نوعى كبير مما يعطى الميكروبات وجذور النباتات فرصة كبيرة لتحويلها للصورة الذائبة، أو يوجد الفوسفور في صورة فلورو أباتيت (صخر الفوسفات) $3Ca_3\ (PO_4)_2{-}Ca\ Fe$ وهذه الصورة هي أقل صور الفوسفور المعدنية استفادة للنباتات، ولكن أمكن الآن الاستفادة منها عن طريق استخدام لقاحات حيوية من البكتريا المذيبة للفوسفات أو فطريات الميكوريزا.

أما في الأراضي الحمضية فإن الفوسفات تترسب في صورة فوسفات حديد أو ألومونيوم وهى شديدة المقاومة لعملية الإذابة، ويجب التنويه إلي أن أعراض نقص الفوسفور علي النباتات لا ترجع إلي نقص الكمية الكلية من الفوسفور وإنما ترجع إلي قلة كمية الفوسفور القابلة للاستفادة.

أما الصور العضوية فتتضمن الأحماض النووية والفوسفوليبيدات والفيتين والمرافقات الإنزيمية ولذلك فإن الجزيئات المحتوية علي هذه المركبات تعتبر من المكونات الهامة للجزء العضوي من التربة وتعتبر مثل هذه المركبات المكونات الأساسية للفوسفور العضوي حيث أنها تتراوح من ١٠ -٨٥٪ من مجموع الفوسفور العضوى.

ويمكن الاستدلال علي وجود الأحماض النووية ومشتقات النيوكليوتيدات في التربة مثل وجود قواعد البيورين والبيريميدين المكونة لجزيئات DNA, RNA وهي القواعد المرتبطة من خلال ارتباط سكر الريبوز الخماسى مع الفوسفات، ويحتوى الدبال دائماً علي كميات صغيرة من الفوسفوليبيدات وغالباً ما تكون كمية الفوسفور العضوي المرتبطة علي هذه الصورة مجرد كمية صغيرة تمثل أقل من ٠,١٪ من مجموع الفوسفور العضوي الكلي، إلا أنه في بعض الأحيان قد تصل نسبته إلي ٥,. ٪، والجزء الأكبر من الفوسفوليبيدات قد يكون علي هيئة فوسفاتيديل إيثانول أمين أو

فوسفاتيديل كولين، وهي مركبات توجد أيضا في كل من النباتات والكائنات الحية الدقيقة، والفوسفور يوجد فى المركبات العضوية في الصورة المؤكسدة PO_4^{-3} أما النيتروجين والكبريت فيتواجدان في الصورة المختزلة $(-NH_2 \ \&- \ SH-)$.

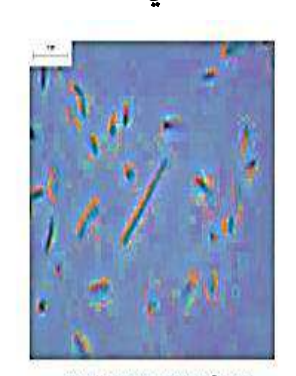
إذابة مركبات الفوسفور غير العضوية

Solubilization of inorganic phosphorus compounds

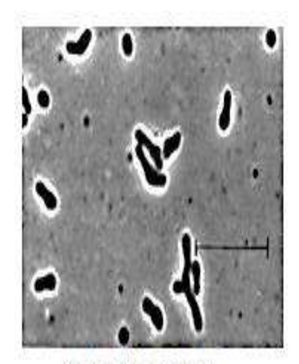
تعتبر المركبات غير الذائبة من الفوسفور المعدني غير ميسرة للنباتات، ولكن يمكن للكثير من الكائنات الحية الدقيقة أن تقوم بتحويلها إلي الصورة الذائبة، ولقد وجد أن ١٠ –٥٠٪ من العزلات البكتيرية المختبرة لديها القدرة علي إذابة مركبات فوسفات الكالسيوم، وأن أعداد البكتيريا المذيبة للفوسفات غير الذائبة في التربة تتراوح من 10^5 إلي 10^7 في الجرام وأنه غالباً ما تتواجد مثل هذه البكتريا بوفرة علي سطوح جذور النباتات (الريزوبلان) ، وقد وجد أن أنواع الميكروبات النشطة في هذا المجال تتبع أجناس *Pseudomonas, Mycobacterium, Micrococcus, Brevibacterium, Bacillus, Flavobacterium Streptomyces, Penicillium, Sclerotium, Fusarium, Rhizopus, Serratia, Achromobacter, Sporosarcina and Aspergillus*.

تنمو هذه البكتريا والفطريات في بيئات غذائية تحتوى علي $Ca_3(PO_4)_2$ أو الفلورو أباتيت أو ما يشابه ذلك من المواد الأخرى غير الذائبة كمصدر وحيد من الفوسفات، ولا يقتصر فعل الميكروبات علي مجرد القيام بتمثيل هذا العنصر بل إنها تقوم بتحويل جزء كبير منه إلي الصورة الذائبة بكميات تتجاوز احتياجاتها الغذائية من هذا العنصر، فإذا وضعت الفوسفات غير الذائبة في صورة معلق في البيئة الغذائية فإنه يمكن تمييز السلالات المسئولة عن إذابة أملاح فوسفات الكالسيوم ، كذلك وجد أن بعض البكتريا والفطريات تعمل أيضاً علي أملاح فوسفات الحديد والألمونيوم والماغنسيوم والمنجنيز وغيرها من مركبات الفوسفات الأخرى، ومما هو جدير بالذكر أن جنس *Arthrobacter* يعتبر من الأجناس البكتيرية الهامة في إذابة الفوسفات في التربة ، كذلك تقوم فطريات الميكوريزا بدور هام في إمداد

النباتات المتعايشة معها بالفوسفات الذائبة حيث وجد أن هيفات هذه الفطريات ذات قدرة عالية علي امتصاص الفوسفات وإمدادها للنباتات التى تعيش معها.



Flavobacterium



Arthrobacter



Brevibacterium

شكل ٣(١)١:الشكل المورفولوجى لبعض البكتريا المذيبة للفوسفات

ميكانيكية الإذابة Solubilization mechanism

يعتبر إنتاج الميكروبات للأحماض العضوية هو الوسيلة الأساسية التي تمكن الكائنات الحية الدقيقة من تحويل مركبات الفوسفور غير الذائبة إلي الصورة الذائبة، وفي بعض الحالات الخاصة التي تقوم بها الميكروبات الذاتية التغذية الكيميائية بأكسدة النشادر أو الكبريت فإن تحويل مركبات الفوسفور يكون عن طريق حمض النيتريك أو الكبريتيك المتكون بفعل بكتريا التأزت وبكتريا أكسدة الكبريت، وتعمل الأحماض العضوية مثل الفورميك والخليك والبروبيونيك والستريك واللاكتيك والسكسنيك علي تحويل $Ca_3(PO_4)_2$ إلي فوسفات ثنائية وأحادية، وتكون المحصلة النهائية لذلك هو توفير هذا العنصر في صورة ميسرة للنبات، وليس المهم كمية الحمض وإنما نوعية الحمض حيث وجد أن حمض 2 keto-gluconic يعمل على سرعة الإذابة، وقد يرجع ذلك إلى احتمالية تكوينه لمواد مخلبية مع بعض الكاتيونات مثل الكالسيوم والحديد مما يساعد على الإذابة وتحرير الفوسفات الميسرة، وتختلف كمية الفوسفات المتحولة إلي الصورة الذائبة بواسطة الكائنات غير ذاتية التغذية باختلاف نوع المادة الكربوهيدراتية المؤكسدة، وبوجه عام فإن عملية التحول تتم فقط في وجود المواد الكربونية التي يمكن تحويلها إلي أحماض عضوية والمعادلات التالية توضح ذلك.

$Ca_3(PO_4)_2 \longrightarrow CaHPO_4$

فوسفات كالسيوم ثنائية فوسفات كالسيوم ثلاثية

$CaHPO_4 \longrightarrow Ca(H_2PO4)_2$

فوسفات كالسيوم أحادية فوسفات كالسيوم ثنائية

وتتفاعل أحماض النيتريك والكبريتيك الناتجة عن أكسدة المركبات النيتروجينية أو مركبات الكبريت غير العضوية مع صخر الفوسفات، وهى بذلك تعمل علي زيادة كمية الفوسفات الذائبة، وتعتبر عملية أكسدة عنصر الكبريت وسيلة بسيطة ولكنها فعالة في توفير صور الفوسفات التي يمكن للنباتات استخدامها، علي سبيل المثال فإنه عند تحضير خليط من التربة أو السماد العضوي مع الكبريت المعدني وصخر الفوسفات فإن استمرار عملية أكسدة الكبريت إلي حمض كبريتيك بواسطة البكتريا من جنس *Thiobacillus* سوف يصاحبها زيادة في حموضة المخلوط مع إنتاج الفوسفات الذائبة، كما أن تأزت أملاح النشادر وتكوين حمض النيتريك بواسطة Nitrifiers يؤثر إلي حد ما علي إنتاج الفوسفور الذائب من صخر الفوسفات في كومات الأسمدة.

أما تحت الظروف اللاهوائية فإن سرعة الذوبان تزداد بسبب:

١- تكون H_2S تحت هذه الظروف الذي يتفاعل مع الحديد ويرسبه مما يحرر الفوسفات.

٢- تحت هذه الظروف ينخفض جهد الأكسدة والاختزال ويختزل الحديديك إلى حديدوز مما يساعد على تحرر الفوسفات.

٣- أكسدة الكربوهيدرات تكون غير كاملة مع تكون أحماض عضوية.

ولقد أوضحت نتائج الأبحاث الحديثة والتي تناولت تأثير التلقيح بمثل هذه الميكروبات (أى إضافتها للتربة في صورة مخصبات حيوية فوسفاتية) علي تيسير الفوسفور في التربة زيادة ملحوظة في زيادة تيسير الفوسفات في التربة، ولقد أعطي مستحضر ميكروب *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* والذي

يسمي فوسفوبكترين أو فوسفورين نتائج جيدة من حيث تيسر الفوسفور وزيادة امتصاصه بواسطة النباتات المعاملة بمثل هذا اللقاح.

ويجب أن نشير إلي أن التأثير المفيد للتلقيح بهذه البكتريا لا يرجع فقط إلي زيادة إذابة الفوسفات في التربة ولكن وجد أن هذه البكتريا لها القدرة أيضاً علي تثبيط بعض الفطريات الممرضة والتي تتواجد في منطقة الريزوسفير حيث تفرز مركبات السيدروفورز وأيضاً إلي قدرة هذه البكتريا علي إفراز مواد منشطة لنمو النباتات مثل الإندولات والجبريللينات والسيتوكينينات.

معدنة الفوسفور العضوي

Organic phosphorus mineralization

وجود المخزون الكبير من الفوسفور العضوي في التربة المصرية والذي لا يمكن استخدامه بواسطة النباتات يؤكد أهمية دور الكائنات الحية الدقيقة في تحويل الفوسفور العضوي إلي الصور غير العضوية، وتقوم البكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات بتحويل الصورة المرتبطة من الفوسفور في بقايا النباتات وفي المادة العضوية للتربة إلي الصورة الميسرة للنباتات من خلال عملية المعدنة، ويتواجد الفوسفور في النباتات في التركيب الكيميائي للأحماض النووية والفوسفوليبيدات والليسثين والفيتين وفوسفات الأدينوسين، وبما أن الفوسفور يتواجد في المركبات العضوية في الصورة المؤكسدة فإنه عند حدوث عملية المعدنة فإن الفوسفور يتحرر في صورة فوسفات مؤكسدة صالحة لامتصاص النباتات مباشرة.

تتم معدنة مركبات الفوسفور في الأراضي البكر بسرعة أكبر منها في الأراضى المنزرعة، وبالإضافة إلي زيادة الكمية الكلية التي تتم معدنتها في الأراضي البكر فإن النسبة المئوية للفوسفور العضوي الكلى الذي يتم تحويله تكون هي الأخرى أكبر في الأراضي البكر عنها في الأراضي المنزرعة، وتناسب درجات الحرارة المعتدلة عمليات التحلل كما أن المدى الحراري المرتفع المناسب للميكروبات المحبة للحرارة العالية يعتبر أكثر مناسبة من المدى الحراري المتوسط، وتنشط معدلات معدنة الفوسفور نتيجة التعديل في درجة حموضة التربة إلي الحد الملائم لعمليات التمثيل

الغذائي الميكروبي بوجه عام، وأن تحويل رقم الأس الأيدروجيني للتربة من الحموضة إلي ناحية التعادل يزيد من معدل إنتاج الفوسفات، وبالإضافة إلي ذلك فإن معدل المعدنة يرتبط مباشرة بكمية المادة المتحولة وعلي ذلك فإن النشاط في الأراضي الغنية بالفوسفور العضوي يتم بمعدلات أعلي، ووجود الفوسفور غير العضوي لا يعمل علي تثبيط عملية المعدنة فهي تستمر بسرعة حتى في الأماكن التي يتوفر بها الفوسفات وكما هو متوقع فإن امتصاص النباتات لعنصر الفوسفور يكون مرتبطا مع معدل معدنة هذا العنصر.

ترتبط كل من عمليتي معدنة وتمثيل هذا العنصر بنفس التفاعلات المناظرة الخاصة بعنصر النيتروجين، وكقاعدة عامة فإن معدل تكوين الفوسفات يزيد تحت نفس الظروف الملائمة لعملية النشدرة، لهذا فقد لوحظ وجود ارتباط مؤكد بين معدلات تحويل كل من النيتروجين والفوسفور إلي الصورة غير العضوية وأن كمية النيتروجين المتحول إلي الصورة المعدنية تبلغ ١٠ إلي ١٥ مثل كمية الفوسفات المتحولة إلي الصورة الميسرة، كما يوجد أيضا ارتباط بين الكربون المنطلق فى صورة CO_2 والفوسفور المتحول إلي الصورة المعدنية وأن النسبة بينهما تبلغ حوالى١٠٠ : ١ – ٣٠٠ : ١، وتشير هذه النتائج بوضوح إلي أن نسبة C:N:P المتمعدن عن طريق الميكروبات تحت ظروف اتزان التربة تماثل نسب هذه العناصر الثلاثة في الدبال والإنزيمات التى تحرر الفوسفور من معظم المركبات العضوية والذى يطلق عليها اسم إنزيمات الفوسفاتيز.

والفوسفاتيز الذي يحلل الفوسفوليبيدات والأحماض النووية يعتبر من النوع المحلل للإستر الثنائى، والإنزيمات القادرة علي تحليل الإسترات الأحادية مائيا كثيرا ما يكون لها درجة pH مثلى محددة سواء من ناحية الحموضة أو القلوية، ونظراً لاختلاف درجة الحموضة المناسبة للنشاط الأمثل من إنزيم لأخر فإن مثل هذه الإنزيمات تعرف بإنزيمات الفوسفاتيز الحمضية أو القاعدية حسب درجة pH اللازمة لها.

تحلل الفيتين Phytin decomposition

يشير وجود مركبات فوسفات الإينوسيتول التي يحتوى الجزئ منها علي خمس ذرات أو اقل من الفوسفور في التربة إلي أن تحلل الإينوسيتول سداسى الفوسفات (الفيتين) هو أحد العمليات التي تحدث بالفعل في التربة، ويعمل إنزيم الفيتيز علي تحرير الفوسفات من حمض الفيتيك (الفيتين) أو أملاح الكالسيوم والماغنسيوم لهذا الحمض أو الفيتين مع تراكم الإينوسيتول.

Phitc acid $+ 6H_2O \xrightarrow{Phytase}$ Inositol $+ 6H_3PO_4$

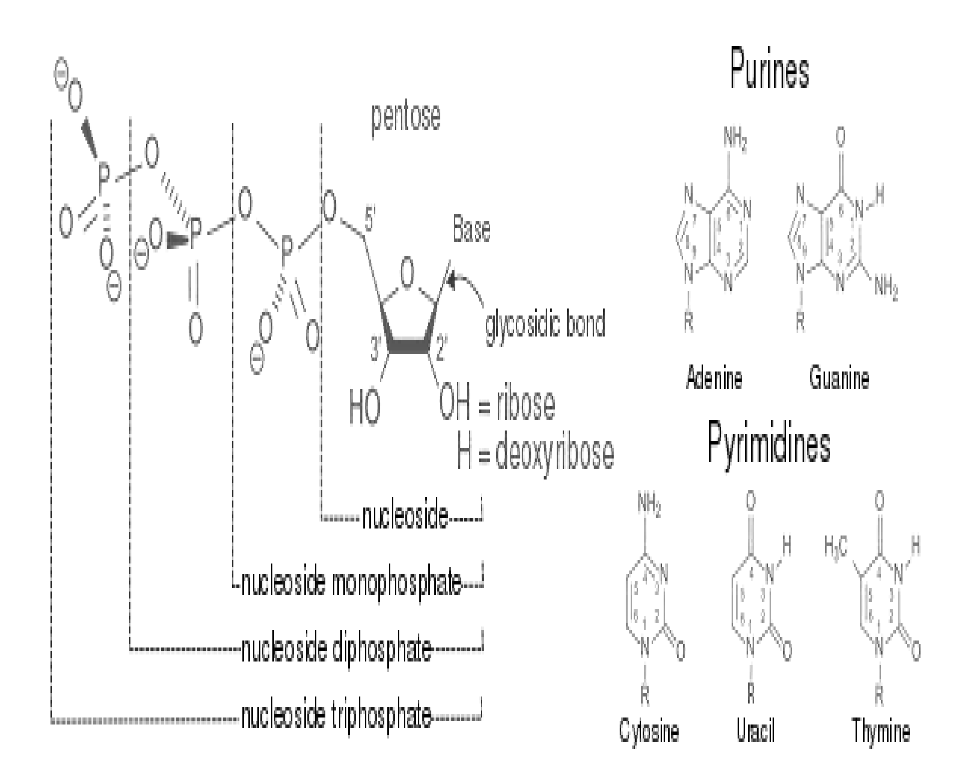
شكل ٣(١)٢:تحلل الفيتين وإنتاج الإينوسيتول

ويعمل الإنزيم علي مركب سداسى الفوسفات وغالباً ما يزيل منه مجموعات الفوسفات الواحدة تلو الأخرى لينتج منه مركبات خماسية ورباعية وثلاثية وثنائية وأحادية الفوسفات وفي النهاية يتكون الإينوسيتول الحر، ولقد وجد أن بعض الميكروبات يمكنها تكسير المركبات خماسية أو رباعية الفوسفات فقط بينما لا يمكنها تكسير الفوسفات السداسية، كما تختلف أيضا أنواع الإنزيمات المتكونة من حيث أن بعض أنواع الميكروبات تنتج إنزيم الفيتيز كإنزيم داخلى بينما تفرز أنواع أخرى إنزيما أخر خارجياً، وإنزيمات الفيتيز تعتبر متخصصة حيث أنها تعمل فقط أو بصفة أساسية علي مركبات فوسفات الإينوسيتول، والبعض الأخر من هذه الإنزيمات يعتبر من إنزيمات الفوسفاتيز غير المتخصصة بحيث تعمل علي إزالة الفوسفور من المركبات العضوية المختلفة، ولقد لاحظ بعض الباحثين أن أعداد الميكروبات المحللة للفيتين تكون أكبر في منطقة الريزوسفير بالمقارنة بالأعداد في التربة البعيدة.

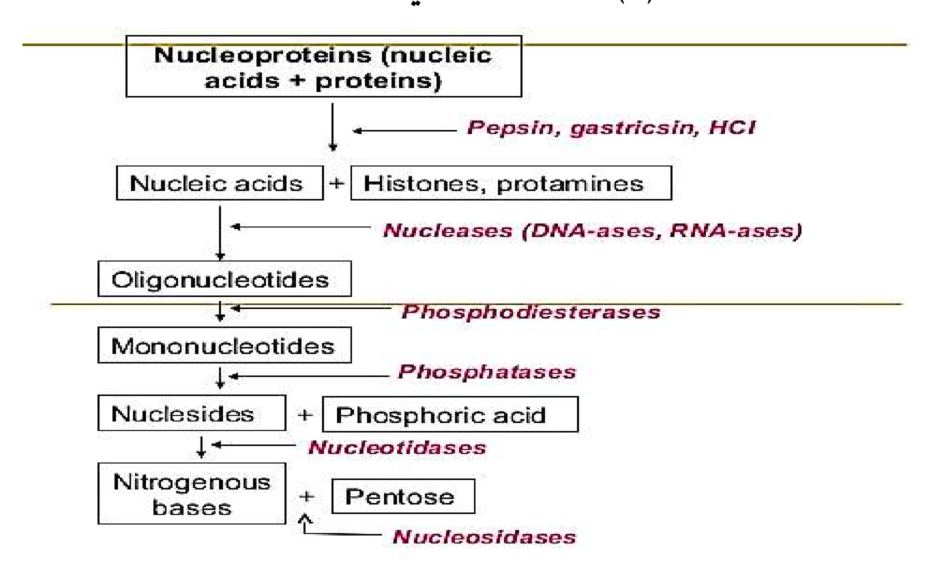
يعتبر نشاط إنـزيم الفيتيز واسع الانتشار حيث أن حوالي ٣٠ - ٥٠٪ من الميكروبات المعزولة من التربة يمكنها إفراز هذا الإنـزيم، كما يزداد نشاط هذه الميكروبات في الطبيعة عند إضافة المواد الكربونية التي تعمل علي زيادة كثافتها العددية، وقد وجد أن أنواع الميكروبات القادرة علي تخليق هذا الإنـزيم تتبع أجناس *Aspergillus, Penicillium, Rhizopus, Cunninghamella, Arthrobacter, Streptomyces, Pseudomonas, Bacillus* ، *ويجب* أن ننوه إلى أن إنزيم الفيتيز لا يحدث تمثيل لمركبات الفيتين بكثرة في التربة, ويبدو أن قدرة الكائنات الدقيقة المنتجة لإنـزيم الفيتيز وهي قدرة عالية بالفعل ليست هي العامل المحدد لحدوث عمليات التحليل المائى لهذا المركب بل إن قلة حدوث مثل هذا التحليل في التربة يرجع إلي وجود حمض الفيتيك بكميات صغيرة في محلول التربة، والميكروبات القادرة علي إنتاج إنزيم الـ Phytase منتشرة في التربة إلا أنها أقل عدداً من الميكروبات المحللة للأحماض النووية والليسثين.

تحلل الأحماض النووية Nucleic acid decomposition

الأحماض النووية تعتبر أسرع المواد الفوسفاتية العضوية تحللاً في التربة، ويمكن تفسير ذلك على أساس أن الأحماض النووية تتميز باحتوائها على كل من الكربون والنيتروجين والفوسفور في داخل تركيبها وبنسب كافية لاحتياجات كثير من الميكروبات النامية عليها، مما يشجع نمو هذه الميكروبات وتحليلها بواسطة إنزيمات Nucleases ولقد لوحظ أن التربة تحتوى على أعداد وأنواع كثيرة من الميكروبات المحللة للأحماض النووية وكثير من الميكروبات قادرة على استخدام هذه المركبات كمصدر وحيد للكربون والنيتروجين والفوسفور، والأحماض النووية عند تحللها بواسطة الميكروبات فإنها تتحلل أولاً إلي مكوناتها الأساسية وهي القواعد النيتروجينية مثل قواعد البيورين والبيريميدين Purines & Pyrimidines وسكريات خماسية Ribose, Deoxyribose ويتحرر ما بها من فوسفور في صورة فوسفات معدنية جاهزة للنبات، ونواتج هذا التحلل أما أن تستخدمها الميكروبات بعد ذلك أو تتمعدن في التربة تبعا لظروف التحلل وظروف التربة.



شكل ٣(١)٣:التركيب البنائي للأحماض النووية



شكل ٣(١)٤:خطوات تحلل الأحماض النووية

وفيما يلي نموذج لتحلل الأحماض النووية في التربة يوضح تحلل أحد النيوكليوتيدات Nucleotides المحتوية على قاعدة Pyrimidine وأخري تحتوى على قاعدة Purine.

نيوكليوتيدة ⟵ نيوكليوسيدة + حمض فوسفوريك

نيوكليوسيدة ⟵ قاعدة أزوتية (بيورين)+ سكر ريبوز

شكل ٣(١)٥: تحلل نيوكليوتيدة بها قاعدة بيورين

شكل ٣(١)٦: تحلل نيوكليوتيدة بها قاعدة بيريميدين

والميكروبات المحللة للأحماض النووية عديدة في التربة، مما يجعل تحللها سريعاً جدا، ولقد أوضحت الدراسات أن أعدادها عالية جداً حول جذور النباتات في منطقة الريزوسفير مقارنة مع التربة البعيدة عن الجذور ، كما اتضح أن الميكروبات في التربة المحللة للأحماض النووية تصل نسبتها إلي٤٠٪ من العدد الكلي للميكروبات في التربة المصرية وأنها أكثر عددا ونشاطاً في منطقة الريزوسفير عن التربة البعيدة من الجذور.

ولقياس قدرة الميكروبات على تحلل الفوسفات العضوية في التربة يقدر معدل نشاط إنزيم الـ **Phosphatase** كدليل على قدرة الميكروبات على إذابة

الفوسفات، حيث أن هذا الإنزيم يفكك رابطة الإستر بين مجموعة الفوسفات وباقي المركب العضوي مما يحرر الفوسفات إلي صورة معدنية قابلة للاستفادة بواسطة النباتات حيث يقوم الإنزيم بالتفاعل الأتي:

$$R-O-\underset{\displaystyle OH}{\overset{\displaystyle O}{\overset{|}{\underset{|}{P}}}}-OH + H_2O \xrightarrow{\text{Phosphatase}} R-OH + HO-\underset{\displaystyle OH}{\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{\underset{|}{P}}}}-OH$$

كما يستخدم أيضاً لقياس قدرة ميكروبات التربة على تحليل الفوسفور العضوي تقدير أعداد الميكروبات المفرزة لإنزيم الفوسفاتيز.

عند إضافة الأحماض النووية النقية إلي التربة فإن فوسفور هذه المركبات يتحرر بسرعة منها، حيث يوجد في الواقع أعداداً كبيرة من الميكروبات المختلفة غير ذاتية التغذية يمكنها النمو في البيئات الغذائية المحتوية علي النيوكليوتيدات كمصدر وحيد لكل من الكربون والنيتروجين والفوسفور، وتتأثر معدنة هذه الأحماض النووية بدرجة حموضة الوسط حيث يقل معدل تحللها بزيادة الحموضة، وتبدأ عمليات التحلل بفك بلمرة RNA بواسطة إنزيم ريبونيوكلييز وDNA بإنزيم دي أوكسى ريبونيوكلييز، ثم تبدأ الخطوة التالية بتكسير مجموعات الفوسفات من المركبات الناتجة عن فك بلمرة الأحماض النووية بالإنزيمات، ونظراً لوجود معظم فوسفور الخلية الميكروبية في صورةDNA, RNA فإنه من الممكن أن ينطلق الفوسفور بسرعة من خلايا بعض الكائنات الدقيقة بالرغم من أنه ينطلق من البعض الأخر ببطء .

تحلل الفوسفوليبيدات Phsopholipids decomposition

الفوسفوليبيدات Phospholipids هي عبارة عن مركبات من الليبيدات مرتبطة مع الفوسفات ، وتقوم البكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات باستخدام الفوسفوليبيدات كمصادر للفوسفور، ويؤدي التحلل البيولوجي لها إلي تحرر الفوسفات منها بواسطة إنزيم Phosphatase، ويوجد مركبات تتبع الفوسفوليبيدات

منها الليسثين Lecithin والسيفالين Cephalin، وتوجد فيها الفوسفات في رابطة استر مع قاعدة نيتروجينية Nitrogen base، لذلك فإن تحلل الليسثين بيولوجيا يعطي على سبيل المثال، جليسرول، حمضين دهنيين، فوسفات وقاعدة نيتروجينية هي قاعدة الكولين ويتم التحلل كالأتي:

$$\begin{array}{l} H_2C-OOC-R \\ HC-OOC-R \\ H_2C-O-P(=O)(OH)-O-CH_2-CH_2-N(OH)(CH_3)_3 \end{array} + 4H_2O \xrightarrow{Lecithinase}$$

Lecithin

$$\longrightarrow 2\,R-COOH + CH_2OH-CHOH-CH_2OH + HO-CH_2-CH_2-N(OH)(CH_3)_3 + H_3PO_4$$

2 Fatty acids + glycerol + Choline base　　phosphoric acid

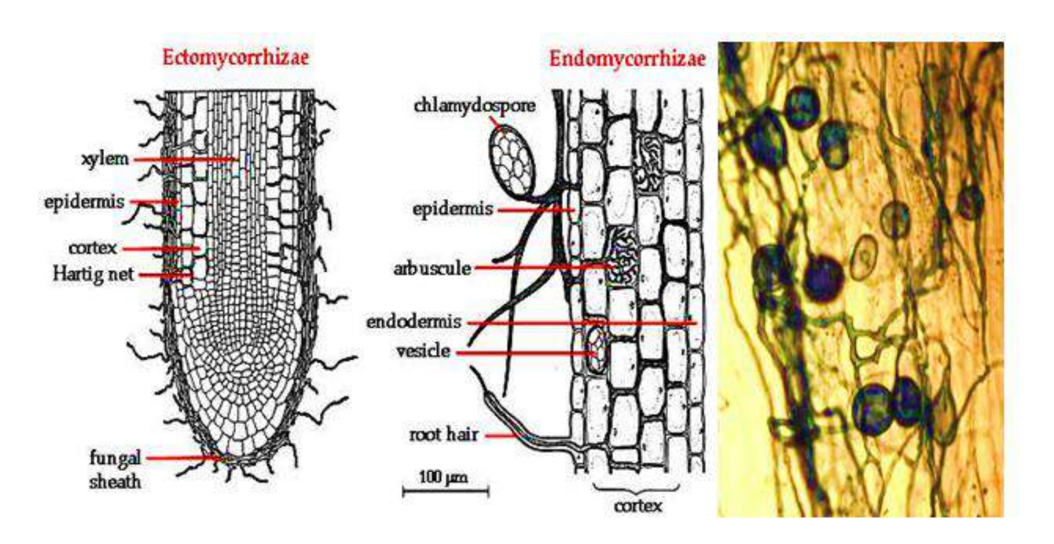
شكل ٣(١)٧:تحلل الليسثين وإنتاج الأحماض الدهنية

ويوجد في التربة العديد من الميكروبات القادرة على تحليل الليسثين منها الميكروبات التابعة لجنس *Chromobacterium, Pseudomonas* ومنها الأنواع التالية: *Pseudomonas longa, Ps. trucosa, Ps liquifaciens, Chromobacterium flavum .*

وقد أمكن عزل ميكروبات قادرة على تحليل الليسثين من على جذور النباتات واتضح أن أعداد هذه الميكروبات في منطقة الريزوسفير أكثر من التربة البعيدة عن الجذور حيث تصل أعداد هذه الميكروبات إلي ٢,٧ مليون خلية / جم تربة جافة بينما تصل في منطقة الريزوسفير إلي ١٠ أضعاف هذا العدد.

يؤثر وجود فطريات الميكوريزا تأثيرا هاماً علي النباتات التي تشارك جذورها في مثل هذا النوع من التعايش، ففي الأراضي الفقيرة في الفوسفور ينشط نمو النباتات بدرجة ملحوظة إذا ما كان هناك تعايش بين جذور النبات والميكوريزا، وذلك علي

العكس من حالة عدم احتواء الجذور علي هذا الفطر، ويؤدي هذا التعايش في الأوساط البيئية الفقيرة في الفوسفات إلي امتصاص النبات للفوسفور بمعدلات تماثل نفس المعدلات الممتصة في حالة التسميد بالأسمدة الفوسفاتية وقد لوحظ مثل هذا التأثير للتعايش بين النبات والكائنات الدقيقة الأرضية في بعض النباتات أيضا مثل القمح وفول الصويا والبصل والصنوبر والذرة، وقد أدت زيادة معدلات تمثيل الفوسفات في مثل هذه الحالات إلي اعتبار أن التلقيح بهذه الفطريات قد تكون له أهمية كبيرة. لم يتم التوصل إلي تفهم كامل فيما يتعلق بكيفية عمل فطريات الميكوريزا علي تشجيع امتصاص الفوسفور أو فيما يتعلق أيضاً بنوع المركبات التي يؤخذ منها هذا العنصر. فقد تكون هناك كميات كبيرة من الفوسفور ناشئة عن وجود الفوسفات المعدنية غير الذائبة التي يمكن لهيفات الفطر الكثيفة أن تستغلها وتلك بالمقارنة بحالة عدم إصابة جذور النبات بهذه الفطريات كما يمكن أيضا أن تتضمن العملية حدوث معدنة للفوسفور بدرجة كبيرة.



شكل ٣(١)٨: فطريات الميكوريزا

تمثيل الفوسفور Phosphorus assimilation

تحتاج الميكروبات في نموها لوجود الصور الميسرة من الفوسفور، ولما كان هذا العنصر من العناصر الأساسية لعمليات التخليق الحيوي للخلية فإن كمية مركبات الفوسفور القابل للتمثيل في الوسط هي التي تتحكم في تكاثر الميكروبات،

وعند وجود الفوسفور بكميات محدودة في الأوساط البيئية فإن إضافة هذا العنصر سوف يؤدي إلي زيادة نشاط الكائنات الحية الدقيقة، وكثيرًا ما لا يستدل علي وجود نقص الفوسفور في التربة، ولكن يمكن أن يحدث نقص في هذا العنصر نتيجة إضافة المواد الكربوهيدراتية، عادة ما يكون لإضافة الفوسفات إلي التربة تأثير قليل علي الميكروبات بها، ويرجع ذلك إلي الكفاءة العالية للكائنات الدقيقة علي تحويل المخزون الطبيعي من العنصر إلي الحالة المعدنية.

عند تمثيل الكائنات الحية الدقيقة لعنصر الفوسفور واستخدامه في تكوين الأحماض النووية والفوسفوليبيدات وكذا المركبات البروتوبلازمية الأخرى، فإن هذا يعمل علي تراكم الصور المختلفة من هذا العنصر في صورة غير ميسرة للاستخدام الحيوي . وخلال تحلل المادة العضوية المضافة إلي التربة يكون هناك احتياج كبير للإمداد بالفوسفات لمواجهة الزيادة في كثافة أعداد الميكروبات، لذلك ففي حالة وجود المخلفات الكربونية الفقيرة في محتواها من الفوسفور فإن التمثيل الميكروبى للفوسفات الميسر يمكن أن يقلل من إنتاجية المحاصيل، ويمكن التغلب علي ذلك بإضافة الأسمدة الفوسفاتية واستمرار تحلل المواد العضوية الفقيرة في الفوسفور يؤدي إلي زيادة نسبة هذا العنصر في بقايا المواد المتحللة.

مما سبق يتضح أن وجود مادة عضوية كربونية سهلة التحلل ولكنها فقيرة في محتواها من الفوسفور فإنه عند تحلل هذه المادة بواسطة الميكروبات فإن الميكروبات لا تجد فيها من الفوسفور ما يكفي لبناء خلاياها ، وبذلك فإنه أثناء التحلل لا يحدث معدنة لكميات الفوسفور القليلة الموجودة فيها حيث تمثلها الميكروبات في خلاياها وإذا لم تكن كمية الفوسفور كافية للميكروبات فإنها تأخذ الفوسفور الميسر من التربة لاستكمال احتياجاتها من الفوسفور مما يقلل من كمية الفوسفور الميسر للنباتات، لذلك يجب إضافة سماد فوسفاتي معدني للتربة عند إضافة مادة عضوية للتربة فقيرة في محتواها من الفوسفور لتعويض النقص من الفوسفور الصالح لتغذية النباتات أو تضاف المادة العضوية قبل الزراعة بفترة كافية حتى يتم التحلل وتضيق نسبة الكربون: الفوسفور في المادة العضوية المتحللة

وتسمي عملية تحول الفوسفور المعدني الموجود في التربة إلي الصورة العضوية في خلايا الميكروبات باسم تثبيت الفوسفور في خلايا الميكروبات Phosphorus immobilization.

ويجب أن نشير إلي أن نقص الفوسفور في التربة نتيجة حدوث P- immobilization يعتبر نقص مؤقت لحين موت الميكروبات وتحللها وحدوث معدنة للفوسفور الموجود بخلاياها مرة أخرى.

علي العكس من ذلك فإنه إذا أضيف للتربة مادة عضوية غنية من الفوسفور فإن الميكروبات أثناء تحليها لهذه المادة سوف تجد ما يكفيها من الفوسفور وزيادة، وفى مثل هذه الحالة لا يحدث P-immobilization وإنما يحدث P-mineralization ، لذلك نجد أن العامل الأساسى الذى يحكم حدوث المعدنة أو التعضون أثناء تحلل المادة العضوية هو نسبة الكربون : الفوسفور.

ولقد وجد أنه إذا زادت نسبة الكربون : الفوسفور عن ٢٠٠ -٣٠٠: ١ فإنه لابد أن يحدث P-immobilization ، وبصفة عامة يعتبر وجود الفوسفور بنسبة ٠,٢٪ في المادة العضوية هو التركيز الحرج للفوسفور وهذا يعني أنه أذا كانت نسبة الفوسفور في المخلف العضوي ٠,٢٪ فأكثر يحدث معدنة والعكس صحيح.

يستدل من ذلك أن الفوسفور يحدث له معدنة وتمثيل تماما كما هو الحال بالنسبة لعنصر النتروجين، والعوامل التي تشجع حدوث أى من العمليتين الحيويتين هي نسبة الفوسفور في المخلفات النباتية الخاضعة للتحلل الميكروبى وكذا الاحتياجات الغذائية للميكروبات المسئولة عن التحلل، فعند زيادة تركيز الفوسفور عن الاحتياجات الغذائية للميكروبات فإن الزيادة من هذا العنصر سوف تظهر في التربة في صورة معدنية، أما إذا قلت كمية الفوسفور عن احتياجات الميكروبات فإن ذلك يؤدي إلي تمثيل الفوسفات، وتبعا لذلك فعند تحلل المواد الفقيرة في محتواها من الفوسفور أى المواد ذات نسبة C : P الواسعة فإن جزءاً من الفوسفور المعدني الميسر الموجود في محيط تواجد الميكروبات سوف يتم تمثيله وبتوالى ضيق النسبة بمرور الوقت نتيجة انطلاق CO_2 سوف تتراكم الفوسفات في التربة ويزداد التيسر.

تفاعلات الأكسدة والاختزال للفوسفور

Oxidation & reduction of phosphorus reactions

كما هو الحال بالنسبة لعنصر النيتروجين فإن الفوسفور يمكن أن يوجد في عدة درجات من الأكسدة ابتداء من –٣ للفوسفين PH_3 إلي الحالة المؤكسدة +٥ في الأورثوفوسفات، ولكن علي عكس الحال بالنسبة للنيتروجين فقد أعطي اهتمام قليل لدراسة التحولات غير العضوية لعنصر الفوسفور، لكن هناك بعض الدلائل التي تشير إلي حدوث تحولات حيوية لحالات التأكسد لهذا العنصر أيضاً،
ويمكن الاستدلال علي حدوث الأكسدة الحيوية للمركبات الفوسفورية المختزلة عند إضافة الفوسفين إلي التربة، فيختفي هذا المركب ويصاحب ذلك زيادة تركيز الفوسفات.

$$PH_3 \xrightarrow{+\ O2} H_3PO_2 \xrightarrow{+O} H_3PO_3 \xrightarrow{+\ O} H_3PO_4$$

ويحدث هذا التحول بفعل الكائنات الدقيقة حيث يقف هذا التفاعل عند إضافة المواد المانعة لنمو الميكروبات مثل التولوين، يوجد عديد من الكائنات غير ذاتية التغذية من بكتريا وفطريات وأكتينوميسيتات تستخدم الفوسفين كمصدر وحيد من الفوسفور في البيئات الغذائية ، فتقوم بأكسدة هذا المركب داخل الخلية إلي مركبات الفوسفات العضوية، تفضل البكتريا استخدام الفوسفات عن الفوسفين حتى أنه في البيئات الغذائية المحتوية علي كلا الايونين فإن أنيون الفوسفات يختفي من المزرعة الميكروبية أولاً، ولا يوجد ما يشير إلي أن عملية الأكسدة ينتج عنها طاقة لنمو البكتريا ذاتية التغذية الكيميائية ومن الممكن أيضاً أن يتأكسد الهيبوفوسفيت (H_3PO_2) إلي فوسفات تحت الظروف المعملية عن طريق الميكروبات غير ذاتية التغذية.

العملية العكسية وهي مسارات الاختزال أخذت بعض الاهتمام من الباحثين، فقد وجد أنه عند تحضين بعض عينات التربة لاهوائياً في بيئات غذائية تحتوي علي المانيتول و$NH_4H_2PO_4$ فإن الفوسفات تختفي بسرعة كبيرة نسبياً ولا يكون ذلك

بسبب عملية التمثيل وحدها لأنها تؤدي إلي استهلاك كمية قليلة فقط من هذا المركب ولكن يبدو أن الفوسفات يتم اختزالها إلى فوسفيت وهيبوفوسفيت ثم فوسفين.

$$H_3PO_4 \xrightarrow{-O} H_3PO_3 \xrightarrow{-O} H_3PO_2 \xrightarrow{-O_2} PH_3$$

Phosphate Phosphite Hypophosphite Phosphine

وفي وجود كل من النترات والكبريتات يتأخر حدوث اختزال الفوسفات حيث يبدو أن كلا من النترات والكبريتات أسهل في استخدامها كمستقبلات للالكترونات.

$NO_3 > SO_4 > PO_4$

بالإضافة إلي ذلك فإن المزارع النقية من *Escherichia coli, Clostridium butyricum* تقوم بتكوين الفوسفيت والهيبوفوسفيت من الأرثوفوسفات، وهذه العملية من الناحية الكيميائية الحيوية تعتبر مناظرة لعملية انطلاق النيتروجين أو لعملية تحويل الكبريتات إلي كبريتيد بواسطة البكتريا، وعلي العكس من حالة اختزال الكبريتات وهي العملية التي يكون الناتج النهائى فيها هو أكثر الصور المختزلة من الكبريت (H_2S) فإنه لا يوجد دليل علي أن الناتج النهائى لاختزال الفوسفات هو تكوين الفوسفين، ومن غير المحتمل أن يحدث الاختزال في الأوساط البيئية جيدة التهوية، ومن الناحية العملية فإن هذه العملية تعتبر قليلة الأهمية حتى في الأراضى المغمورة بالماء، ولكن يجب أن تشير إلي أن مركبات الفوسفور المختزلة يحدث لها أكسدة بيولوجية في التربة عند تحسن ظروف التهوية.

التحولات البيولوجية للفوسفور في الأراضي

Biotransformation of phosphorus in soils

١- أوضحت الدراسات التى أجراها طه ومحمود وعبدالحافظ وإحسان حنفى فى الفترة من١٩٦٦إلى١٩٧٦احتواء الأراضي المصرية على أعداد كبيرة من الميكروبات المذيبة للفوسفات تصل إلي عدة ملايين لكل جرام تربة، وتتوقف أعداد تلك الكائنات على ظروف التربة ونوع وعمر النبات النامي، فهي تزيد في الأراضي الخصبة بينما توجد بقلة في الأراضي الملحية والقلوية، كما أنها توجد بكثافة أكبر في الأراضي المنزرعة بالبقوليات عن تلك المنزرعة بالنجيليات ويزيد عددها بتقدم عمر النبات حتى مرحلة بدء تكوين البذور وبعدها تأخذ في الانخفاض حتى نهاية نضج المحصول ، وكذلك تزداد في العدد في الأراضي المسمدة بالأسمدة العضوية.

٢- تحتوى منطقة الريزوسفير على نسبة مرتفعة من الميكروبات المذيبة للفوسفات، وتمثل من ٣٠ – ٥٠ ٪ من العدد الكلي للميكروبات بتلك المنطقة.

٣- تلعب فطريات الميكوريزا دورا ملموساً في إمداد النباتات المتعايشة معها بالفوسفور الميسر.

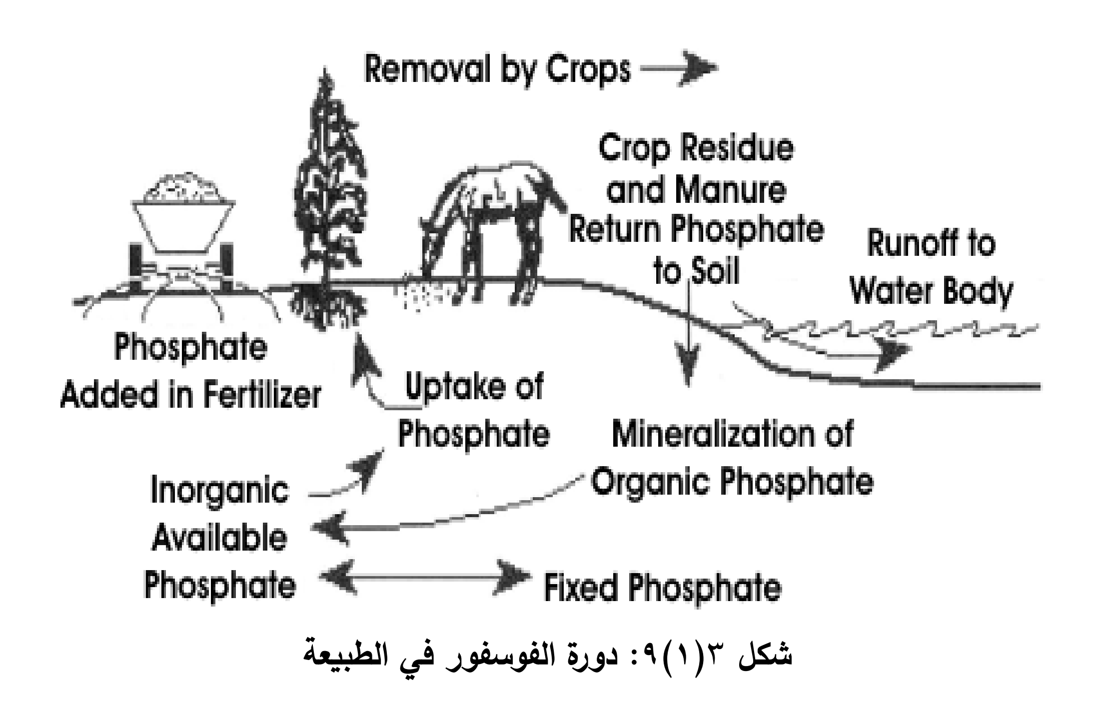
٤- وجود الميكروبات المذيبة للفوسفات بكثافة عالية في الأراضي المصرية يلعب دورا مؤثرا في إنتاجية هذه الأراضي، فمن المعروف أن pH هذه الأراضي يتراوح ما بين ٧,٥ إلي ٩ ، وهذا يؤدي إلي وجود معظم الفوسفور بالتربة في صورة غير ميسرة للنبات، وبذلك فإن النباتات النامية تعتمد بدرجة كبيرة على أحياء التربة الدقيقة لسد احتياجاتها من الفوسفور الميسر، ولقد لوحظ أن النباتات النامية في التربة المعقمة تعاني نقصاً واضحا في قدرتها على امتصاص الفوسفات تحت الظروف القاعدية السائدة في الأراضي المصرية.

٥- وجد أن تلقيح التربة أو البذور بالسلالات المحلية ذات الكفاءة العالية في إذابة الفوسفات يزيد من نمو النباتات وامتصاصها للفوسفات.

٦- تتراوح نسبة الفوسفور الكلي بالأراضي المصرية ما بين ٠,٠٥ -٠,٢ ٪ أما الفوسفور الذائب فأنه يتراوح ما بين ٠,١٥-١,١ ملليجرام فوسفور لكل ١٠٠ جم تربة.

يمثل الفوسفور العضوي بالأراضي المصرية من ٢٠ - ٨٥ ٪ من الفوسفور الكلي الموجود بها، وتحتوى هذه الأراضي على أعداد من الميكروبات تصل إلي $١٠^{٦}$ / جم تربة لها القدرة على معدنة الفوسفور العضوي، وهذا يؤدي إلي المساهمة في إمداد النباتات النامية باحتياجاتها من الفوسفور تحت ظروف التربة القاعدية، ولقد لوحظ أيضاً أن أعداد هذه الميكروبات أكبر في منطقة الريزوسفير عن التربة البعيدة عن الجذور.

٧- وجد أن أكثر الأنواع الميكروبية انتشارًا بالأراضي المصرية ذات الكفاءة العالية في تحليل الفوسفات العضوية والمعدنية، هي الأنواع الهوائية المتجرثمة التي تتبع جنس ***Bacillus*** وكذلك الأنواع التي تتبع جنس ***Streptomyces*** حيث يمثل كل منهما من ٢٠-٦٠ ٪ من مجموع الميكروبات المحللة للفوسفات.



شكل ٣(١)٩: دورة الفوسفور في الطبيعة

الأسمدة الحيوية Biofertilizers

منذ أن بدأ التعرف في بداية هذا القرن علي الدور الذي تلعبه بكتريا العقد الجذرية في زيادة إنتاجية المحاصيل من خلال تثبيتها للأزوت الجوي في العقد الجذرية للنباتات البقولية، اتجهت الأنظار إلي الاستفادة من أنشطة أحياء التربة الدقيقة كوسيلة لمد النباتات النامية ببعض احتياجاتها الغذائية. ومن هنا بدأ استخدام اصطلاح التسميد الحيوي الذي يقصد به كل الإضافات ذات الأصل الحيوي التي تمد النبات النامي باحتياجاته الغذائية، وإذا تضمنت هذه الإضافات أحياء دقيقة فإنه يمكن أن تسمي أيضا باللقاحات الميكروبية **Microbial inoculants**.

تعتبر الأسمدة الحيوية مصادر غذائية للنبات رخيصة الثمن جدًا إذا ما قورنت بالأسمدة المعدنية، حيث تشير الإحصائيات إلي أن إنتاج الغذاء في العالم يعتمد علي الأسمدة الكيماوية النيتروجينية، الاحتياجات من الأسمدة النيتروجينية وصلت إلي ١٦٠ مليون طن ولقد ارتفع معدل استهلاك الأسمدة الكيماوية بأنواعها المختلفة في الدول النامية نتيجة ارتفاع معدل زيادة السكان وبالتالى ازدياد الحاجة إلي المنتجات الغذائية واتجاه هذه الدول إلي التوسع الأفقي والرأسى في الزراعة، ويتطلب استيراد هذه الأسمدة عملة صعبة يمثل توفيرها ضغطا علي الاقتصاد القومي كما أنه يقلل من المكاسب المتحصل عليها من الصادرات وحتى بعد استيراد هذه الأسمدة فإن الحكومة تقوم بدعمها لتوزيعها بأسعار في متناول أيدي المزارعين في الحيازات الزراعية المختلفة وهذا الدعم المادي يمثل عبئا أخر علي الاقتصاد القومي لاسيما وأنه يتزايد عاما بعد أخر، وإن كان ذلك هو الوضع في مصر فإنه يعتبر أفضل عما هو موجود في عديد من الدول الأخرى التي لا تملك الطاقات المادية لإنشاء مصانع أسمدة أو استيراد الأسمدة الكيماوية ومن المتوقع أن تتفاقم مشكلة توفير الأسمدة الكيماوية في المستقبل نظرا لانخفاض إمدادات الغاز الطبيعي اللازم لتصنيع الأسمدة الأزوتية بل ونقص مصادر الطاقة بصورة عامة علي مستوي العالم مما سينتج عنه ارتفاع في أسعار الأسمدة، يضاف إلي ما سبق المشاكل المتعلقة

بتلوث البيئة والناجمة عن الاستخدام المكثف للأسمدة الكيماوية وخاصة الأسمدة الأزوتية والتي سبق الإشارة إليها.

أنواع الأسمدة الحيوية

يمكن تقسيم الأسمدة الحيوية من حيث طبيعتها وسلوكها في التربة إلي:

١-أسمدة حيوية تكافلية Symbiotic biofertilizers

ويتم إنتاجها من أحياء دقيقة تعيش معيشة تعاونية مع جذور النباتات وتقوم هذه الميكروبات بإمداد النباتات ببعض العناصر الغذائية مع أخذ احتياجاتها الغذائية خصوصاً مصدر الكربون مع النبات أي أنه يحدث تبادل منفعة **Mutualism** بين كائنين مختلفين يعيشان مع بعضهما (الميكروب والنبات) أي يكفل كل منهما الأخر ويطلق عليهما الكائنين المتكافلين **Symbionts**، وعندما يعيش الميكروب داخل أنسجة النبات يطلق عليه التكافل الداخلي **(Endophyte) Endosymbiont** كما في حالة الريزوبيا **Rhizobia** والميكوريزا الشجرية **Arbuscular Mycorrhizas** ويلاحظ أن كلا الميكروبين تعيش خلاياه داخل خلايا النبات (**Intracellular**).

أو قد يوجد الميكروب حول جذور النبات مكوناً طبقة أو غلافاً ملتصقاً بالجذر ويطلق عليه المتكافل الخارجي **Ectosymbiont** كما في حالة الميكورايزا الخارجية (الإكتوميكوريزا) **Ectomycorrhiza**.

وقد يكون هذا التعاون إجبارياً **Obligate symbiosis** وفي هذه الحالة لا يستطيع الميكروب النمو خارج النسيج النباتي مثل الميكوريزا الشجرية (لا يمكن تنميته علي الأوساط الغذائية الصناعية كما أنه لا يستطيع النمو في التربة)، أو قد يكون التعاون اختيارياً **Facultative symbiosis** وفي هذه الحالة يستطيع الميكروب النمو منفرداً بعيد عن النبات ويمكن تنميته علي أوساط غذائية صناعية أو في التربة كما في حالة الريزوبيا والفرانكيا ***Frankia*** (تكون عقد جذرية علي جذور بعض الأشجار) والميكوريزا الخارجية. وقد تكون هناك سلالات متخصصة

تتعاون مع نبات معين مثل بكتريا العقد الجذرية حيث يكون لكل نوع من النباتات البقولية سلالة خاصة من الريزوبيا.

٢-أسمدة حيوية لاتكافلية Nonsymbiotic biofertilizers

ويتميز هذا النوع من الأسمدة الحيوية بأن الأحياء الدقيقة المستخدمة في إنتاجه لا تعيش معيشة تعاونية مع جذور النباتات ولكن تعيش حرة في التربة وتحصل علي احتياجاتها الغذائية من التربة وقد تشجع إفرازات الجذور لبعض النباتات النشاط الحيوي لهذه الميكروبات، وبالتالي زيادة كفاءتها كسماد حيوي. ومن أمثلة الأحياء الدقيقة المستخدمة في هذا النوع من الأسمدة ميكروبات الأزوتوباكتر ***Azotobacter*** والأزوسبيريللام ***Azospirillum*** (مثبتات الأزوت الجوي اللاتكافلية) ومذيبات الفوسفات **Phosphate dissolving bacteria** والطحالب الخضراء المزرقة (السيانوبكتريا) وبكتريا الكبريت المعدنية.

وتقسم الأسمدة الحيوية من حيث نشاطها الحيوي ونوع العناصر الغذائية التي توفرها للنبات إلي:

أولاً: أسمدة حيوية لمعدنة المادة العضوية

قد تتحلل المادة العضوية سواء الموجودة في التربة أو المضافة إليها ببطء نتيجة لعدم توافر أنواع خاصة من الميكروبات أو تواجدها بأعداد قليلة لا تفي بمعدنة المادة العضوية وتحتاج إلي فترات زمنية طويلة، لذا فإن الأنواع النشطة في هذا المجال يتم إكثارها معمليا بشروط خاصة تحافظ علي حيويتها ثم تلقح بها التربة، وعادة يتم استخدام سلالات مناسبة لكل نوع من التربة الزراعية وتتحمل الظروف الطبيعية والكيميائية الموجودة فيها مثل الميكروبات التي تتحمل الحرارة العالية أو المنخفضة الحرارة أو المحبة للحرارة المعتدلة أو التي تتحمل الجفاف ويستخدم عادة أنواع خاصة من الفطريات والأكتينوميسيتات والبكتريا ومن أهمها:

Bacillus, Cytophaga, Pseudomonas, Clostridium, Aspergillus, Penicillium, Trichoderma, Chaetomium.

ثانياً: أسمدة حيوية لإمداد النبات بالنيتروجين

(١) أسمدة حيوية تكافلية

ويستخدم فيها الميكروبات القادرة علي تثبيت الأزوت الجوي تكافلياً ويتوقف نوع الميكروب المستخدم في التلقيح علي نوع النباتات النامية، ففي حالة النباتات البقولية يتم إكثار سلالات خاصة من بكتريا العقد الجذرية ذات كفاءة عالية علي تكوين عقد جذرية فعالة علي جذور النباتات مثل استخدام بكتريا ***Rhizobium melliloti*** للبرسيم الحجازي والحلبة، ***R. trifolii*** للبرسيم العادي، ***R. leguminoisarum*** للبسلة والعدس والفول البلدي، ***Bradyrhizobium japonicum*** لفول الصويا. كما تستخدم بعض سلالات من الفرانكيا لتلقيح شتلات بعض أشجار الغابات مثل استخدام بكتريا ***Frankia casuarina*** لتلقيح شتلات نبات الكازورينا، وتقوم هذه الميكروبات بتثبيت الأزوت الجوي في العقد الجذرية وإمداد النباتات باحتياجاتها من هذا العنصر، وبذا يمكن الاستغناء عن الأسمدة النيتروجينية المستخدمة في تسميد هذه النباتات أو التقليل منها.

(٢) أسمدة حيوية لاتكافلية

وهي تشمل مجموعة من الميكروبات اللاتكافلية التي تستطيع أن تنمو في التربة وتنشط وتتكاثر وتقوم بتثبيت الأزوت الجوي وبناء خلايا غنية بالنتروجين العضوي وبالتالي تزداد الكتلة الحيوية لهذه الميكروبات وعند موتها وتحللها يحدث لها نشدرة (معدنة النتروجين العضوي) بواسطة ميكروبات أخرى وينتج منها الأمونيا التي يستفيد منها النبات، ومن أهم أجناس هذه الميكروبات ***Azotobacter***، ***Beijerinckia***، والأزوسبيريلام ***Azospirillum***. كما تستخدم الطحالب الخضراء المزرقة (تقوم بتثبيت الأزوت الجوي والتمثيل الضوئي) في تلقيح أراضي الأرز لإمداده بالنيتروجين.

وهناك نوع من الطحالب الخضراء المزرقة يعيش متكافلاً مع نوع معين من النباتات السرخسية يسمي نبات الأزولا ***Azolla*** الذي يعيش في التجاويف الخاصة

بأوراقه طحلب Anabaena ويمده بالنتروجين ويأخذ منه المواد الكربوهيدراتية (الطحلب يقوم بتثبيت الأزوت الجوي)، وتنمي الأزولا في أحواض ثم تلقح بها أراضي الأرز، وبالتالي يزيد محتوي التربة من الأزوت العضوي وكذلك المادة العضوية التي تتحلل وتمد النبات بما يحتاجه من النيتروجين.

(٣) أسمدة حيوية لمعدنة الفوسفور العضوي

تقوم ميكروبات التربة بمعدنة الفوسفور العضوي الموجود في بقايا النباتات والحيوانات والأحياء الأخري والتي تحتوي علي الفوسفور في كثير من مركباتها العضوية مثل الأحماض النووية والفيتين والسكريات المفسفرة والفوسفولبيدات والليسيثين والسيفالين والمرافقات الإنزيمية ADP , ATP. وعادة يوجد الفوسفور في المواد العضوية في صورة PO_4^{3-} ومن أنشط الميكروبات في تحليل المركبات العضوية الفوسفورية.

Aspergillus niger, Penicillium digitatum, Candida, Rhodotorula, Serratia, Flavobacterium, Streptomyces, Schwanniomyces, Erwinia, Enterobacter, Achromobacter.

ويتم انتقاء أكفأ السلالات الميكروبية وتنشيطها معملياً ثم تلقح بها التربة أو بذور النباتات لكي تقوم بدورها في معدنة الفوسفور العضوي وعادة تنشط هذه الميكروبات في منطقة الريزوسفير ويستفيد الجذر مباشرة من الفوسفات المتحررة من تحلل المادة العضوية.

(٤) أسمدة حيوية لإذابة الفوسفات المعدنية

يوجد الفوسفور المعدني عادة في صورة فوسفات كالسيوم الثلاثية $Ca_3(PO_4)_2$ غير ميسرة (غير قابلة للامتصاص) للنبات في الترب المتعادلة أو القاعدية. وعند إضافة الأسمدة الفوسفاتية المعدنية إلي هذا النوع من الترب الزراعية فإن جزء منها قبل أن يستفيد منه النبات سرعان ما يتحول إلي الصورة غير الذائبة (غير الميسرة للنبات) وتكون غنية بالفوسفات ولكن لا يستفيد منها النبات.

وتقوم بعض الميكروبات بتحويل الصورة غير الذائبة (فوسفات الكالسيوم الثلاثية) إلي صورة ذائبة مرة أخري (فوسفات الكالسيوم الأحادية) ودور هذه الميكروبات مهم جداً في الأراضي المتعادلة أو المائلة للقلوية، فإذا وجدت بكثافة عالية في منطقة الريزوسفير فإنها تنمو وتنشط نتيجة للإفرازات الجذرية وما بها من مواد عضوية وتخرج نواتج التحولات الغذائية خارج خلاياها وتكون هذه النواتج عبارة عن أحماض عضوية وثاني أكسيد الكربون مما يؤدي إلي تحويل الفوسفات إلي الصورة الذائبة كما يلي:

وتقسم الميكروبات المذيبة للفوسفات المعدنية إلي:

أ) ميكروبات غير تكافلية

وهي تعيش حرة في التربة أو منطقة الريزوسفير ولا توجد خلاياها في الأنسجة النباتية ويطلق عليها الميكروبات المذيبة للفوسفات **Phosphate dissolvers** ويتبعها عديد من الفطريات والبكتريا والأكتينوميسيتات التي تفرز أحماض عضوية أثناء نموها مثل ***Bacillus*، *Aspergillus*** ومن أشهر أنواع البكتريا في التلقيح كسماد حيوي بكتريا ***B. megaterium* var. *phosphaticum***، ويلجأ المنتجون الأسمدة الحيوية عادة إلي استخدام أكثر من نوع من الميكروبات المذيبة للفوسفات حتى يتناسب مع عديد من التربة الزراعية وفي المناطق المختلفة، وتلعب هذه الميكروبات أيضا دوراً هاماً في إذابة الفوسفات الصخري **Rock phosphate** إذا أضيف إلي التربة كمصدر للفوسفات، ويمكن تحديد مدي إحتياج التربة للتلقيح بهذه الميكروبات بتحديد كثافة وكفاءة الميكروبات المذيبة للفوسفات بها ويتم ذلك بتقدير أعدادها باستخدام بيئة غذائية تحتوي علي فوسفات الكالسيوم الثلاثية وجلوكوز وبعض الأملاح المعدنية فتظهر مستعمرات الميكروبات المذيبة للفوسفات محاطة بهالة شفافة نتيجة لإذابة الفوسفات وكلما زاد قطر هذه الهالة كلما زادت كفاءة الميكروب في إذابة الفوسفات فإذا كانت كثافة الميكروبات منخفضة في هذه التربة فإنه يجب تلقيح التربة بسلالات ذات كفاءة

عالية، كما يجب أن تتوافر في التربة المواد العضوية القابلة للتحلل حتى تنشط هذه الميكروبات وتنتج الأحماض العضوية الكافية لإذابة الفوسفات التي تسد احتياجات النباتات.

ب) ميكروبات تكافلية

الميكوريزا الشجيرية Arbuscular mycorrhizas

وهي عبارة عن نوع من الفطريات التي تعيش معيشة تكافلية إجبارية Obligate mutual symbiosis مع جذور كثير من المحاصيل التقليدية (القمح، الذرة، الشعير، البرسيم، البصل) وغيرها حيث تنمو في منطقة القشرة Cortex للمجموع الجذري وتخرج الهيفات الفطرية خارج المجموع الجذري ولمسافات طويلة وتقوم بإذابة الفوسفات وإمداد النبات بما يحتاجه من هذا العنصر، ويتم إكثار هذا النوع من الميكوريزا في الصوب الزجاجية باستخدام عوائل نباتية خاصة مثل البصل والذرة الشامية ثم تجمع الجراثيم وتستخدم في تلقيح التربة الفقيرة بها، وتقوم هذه الفطريات بإذابة الفوسفات الثلاثية أو الفوسفات الصخري ومن أمثلتها أجناس *Glomus*، *Gigaspora*.

الميكوريزا الخارجية Ectomycorrhizas

وهذا النوع من الميكوريزا يكون غلافا حول جذور بعض الأشجار وهي تعيش معيشة تعاونية اختيارية؛ ولذا فإنه يتم إكثار الفطر معمليا ثم تلقح الشتلات قبل زراعتها وهي تقوم أيضا بإذابة الفوسفات الثلاثي أو الفوسفات الصخري.

(٥) أسمدة حيوية لإذابة الكبريت

يضاف الكبريت المعدني كمخصب للترب القلوية للحد من قلويتها وزيادة محتواها من الكبريتات اللازمة لتغذية النبات، والكبريت المعدني مسحوق غير ذائب في الماء، وتقوم البكتريا الكيمومعدنية التغذية Chemolithotrophs بأكسدة كلاً من:

- الكبريت المعدني في الترب الجيدة التهوية إلي حمض كبريتك تبعاً للمعادلة التالية:

$$S + H_2O + O_2 \longrightarrow H_2SO_4$$

- أملاح الكبرتيد والثيوسلفات والتتراثيونات كما فى بعض الأنواع التابعة لجنس *Thiobacillus* تبعاً للمعادلات التالية:

$$FeS + 15\text{-}2\,O_2 + H_2O \longrightarrow Fe_2(SO_4)_3 + H_2SO_4 + E$$

$$5Na_2S_2O_3 + 4O_2 + H_2O \longrightarrow 5Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 4S + E$$

$$Na_2S_4O_6 + 2\,O_2 \longrightarrow 2Na_2SO_4 + 2\,S + CO_2 + E$$

- الكبريت في ظروف لاهوائية مثل *Th. denitrificans* كالآتي:

$$5\,S + 6\,KNO_3 + 2\,H_2O \longrightarrow K_2SO_4 + 4\,KHSO_4 + 3\,N_2$$

ونظراً لأن هذه الميكروبات حساسة جداً وتفضل pH يتراوح ما بين ٥ إلي ٦ لذا فإنه يجب إكثارها بطرق خاصة للمحافظة علي حيويتها وتلقح في التربة جيدة التهوية مع عدم إضافة أسمدة عضوية في الفترات الأولي من التلقيح نظراً لأنـها ميكروبات كيمومعدنية التغذية فقط.

وينصح أيضاً بإضافة الكبريت المعدني إلي التربة التي ينتشر فيها مرض الجرب العادي في البطاطس الذي يسببه *Streptomyces* scabies الذي يفضل الوسط المائل للقلوية وبالتالي فإن إضافة الكبريت يزيد من نشاط بكتريا الكبريت المعدنية التي تؤدي إلي التقليل من قلوية التربة، وبالتالي يحد من انتشار هذا المرض.

ميكانيكيات تأثير الأسمدة الحيوية

السماد الحيوي	ميكانيكية التأثير
١- بكتريا العقد الجذرية Frankia ,Rhizobium	-تثبيت أزوت الهواء الجوي - إنتاج منشطات النمو
٢- البكتريا المثبتة للأزوت بصورة حرة *Azotobacter, Azospirillum*	-تثبيت أزوت الهواء الجوي -إنتاج منشطات النمو -الحماية من المسببات المرضية
٣- البكتريا الخضراء المزرقة (السيانوبكتريا)	تثبيت أزوت الهواء الجوي -إنتاج منشطات النمو
٤- الأزولا	-تثبيت أزوت الهواء الجوي
٥- مذيبات الفوسفات البكتيرية	-إنتاج أحماض عضوية -إنتاج منشطات النمو -الحماية من المسببات المرضية
٦- فطريات الميكوريزا	- زيادة امتصاص العناصر الغذائية خاصة الفوسفات-زيادة المقاومة للجفاف- الحماية من المسببات المرضية
٧- بكتريا السليكات	-إنتاج أحماض عضوية
٨- بكتريا السيدوموناس	-إنتاج مخلبيات الحديد
٩- الخميرة	-إنتاج منشطات النمو

وفي مقابل ذلك فإن الأسمدة الحيوية المحضرة من الكائنات الحية الدقيقة يتم تجهيزها بأساليب بسيطة غير مكلفة تبدأ بانتخاب الميكروب ذو الكفاءة ثم إكثاره في مزارع ملائمة ثم نقل النمو إلي حامل مناسب حيث يحفظ تحت ظروف ملائمة لحين استعماله كلقاح للبذور أو التربة ولا يتعدي سعر كيس اللقاح الذي يكفي لتلقيح كمية البذور اللازمة للفدان ١٠ جنيهات في حين تستطيع البكتريا المستخدمة إذا كانت من الأنواع المثبتة للأزوت بصورة حرة أن توفر ٢٥٪ من الاحتياجات الأزوتية للعائل النامي وتصل إلي ٩٠٪ في حالة البكتريا العقدية،وعموماً فإن نجاح السماد الحيوي في تحقيق الفائدة المرجوة منه يعتمد علي عدة عوامل هي:

١- كفاءة الميكروب المستخدم.

٢- مدى توافق الكائن الحي مع العائل النباتي وقد ثبت تجريبيا أن هذا التوافق يمكن أن يتباين حتى علي مستوى سلالة الكائن وصنف النبات.

٣- القدرة التنافسية للكائنات المماثلة والموجودة بصورة طبيعية في التربة.

٤- أعداد الكائن الحي في المنطقة المحيطة بجذور العائل وقدرتها علي البقاء ومن أمثلة الأسمدة الحيوية ذات الأهمية الاقتصادية الكبيرة:

١- لقاحات الريزوبيا المستخدمة للبقوليات والتي بدأ تسويقها منذ سنوات طويلة علي نطاق تجارى في بلاد عديدة ، وأصبحت في الخمسين سنة الأخيرة تستعمل كلقاحات للتربة أو للبذور في أغلب بلاد العالم (عقدين أو نوديولين **Nodulin**).

٢- لقاحات *Azotobacter* *Azospirillum,* مثل **Microbeen, Rhizobacterin, Cerealin** والتي تخلط بالحبوب لتمد العوائل النجيلية ببعض احتياجاتها من النيتروجين من خلال تثبيت النيتروجين لاتكافلياً.

٣- في الأراضى الغدقة المنزرعة أرز فإن الميكروبات المثبتة للأزوت الممثلة للضوء مثل الطحالب الخضراء المزرقة تساهم في إمداد نبات الأرز بجزء كبير من احتياجاته الأزوتية، بالإضافة إلي ما تفرزه من مواد منشطة للنمو، لذلك فإن إنتاج

لقاحات من الطحالب الخضراء المزرقة لاستخدامها كلقاح بالأرض المنزرعة أرزا أصبح يتم الأن علي نطاق تجارى كبير.

٤- في السنوات الأخيرة تأكد الدور الهام الذي تلعبه الأزولا في مزارع الأرز من حيث تثبيت الأزوت وكسماد عضوي للتربة، وأصبحت الأزولا الأن تنمي في مزارع مائية مناسبة لاستخدامها كلقاح في مزارع الأرز كما يمكن تنميتها في مزارع الأرز بعد عملية الشتل.

٥- لقاحات الكائنات التي لها دور هام في تيسير فوسفات التربة للنبات ، وبذلك تمده باحتياجاته الفوسفورية ومن هذه اللقاحات:

أ- لقاح فطريات الميكرويزا الذي يفيد الكثير من المحاصيل خاصة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية التي تعاني تربتها من زيادة تثبيت الفوسفات بها، بالإضافة إلي أن الحرارة العالية تساعد علي زيادة نشاط اللقاح الفطرى وذلك عن أراضى المناطق المعتدلة أو الباردة.

ب- المنتج المسمى Phosphobacterin (يسمى الأن فوسفورين) المحتوي علي بكتريا *Bacillus megaterium var. phosphaticum* ذو الكفاءة العالية في إذابة الفوسفات غير الذائبة بالتربة. ويستعمل هذا اللقاح بكثرة في الاتحاد السوفيتي وبلدان أوروبا الشرقية لزيادة تيسير الفوسفات بالتربة الزراعية.

يوجد لقاحات ثبت فعاليتها علي المستوي التطبيقي ولكنها غير متوفرة في مصر مثل لقاح الأزولا الذي يستخدم علي نطاق واسع في مزارع الأرز في الصين وفيتنام ودول جنوب شرق أسيا كذلك استطاع الباحثون في الولايات المتحدة الأمريكية إنتاج لقاح فعال للميكوريزا المكونة للأوعية والتفرعات الشجيرية باستخدام الـ Aeroponic system وإن كان لم يعمم استخدامه بعد، وفي فرنسا استطاع الباحثون من إنتاج لقاح للفرانكيا محملا علي ألجينات الصوديوم وجارى في الوقت الحالي الإعداد لإنتاج هذا اللقاح بمصر ومن ناحية أخرى فإن هناك بعض اللقاحات التي مازالت فعاليتها محل نقاش كلقاحات البكتريا المثبتة للأزوت بصورة حرة ومذيبات الفوسفات وبكتريا

السليكات وإن كان العديد من التجارب الحقلية قد أثبتت فعالية البكتريا المثبتة للأزوت بصورة حرة تحت الظروف المصرية.

الفوائد التى تتحقق من استخدام الأسمدة الحيوية

١.تقليل الاعتماد علي الأسمدة الكيماوية وبالتالى يحدث انخفاض في تكاليف الإنتاج.

٢.إضافة المخصبات الحيوية يؤدي إلي تيسير العناصر الغذائية وخصوصاً الفوسفور والعناصر الصغري.

٣.زيادة محتوي الأرض من المادة العضوية.

٤.تحسين امتصاص الماء والعناصر الغذائية.

٥.تحسين خواص التربة من خلال تشجيع عملية الـ **Aggregation**.

٦.الإسراع من إنبات البذور.

٧.إنتاج بعض الإنزيمات بواسطة الميكروبات المضافة والتى تقوم بدور هام في تحليل المواد العضوية.

٨.إنتاج بعض منشطات النمو بواسطة الميكروبات المضافة .

٩.إنتاج بعض المركبات المخلبية والتى تزيد من تيسر معظم العناصر الصغري.

١٠.الحد من تلوث البيئة الذى ينتج من الاستخدام المكثف للأسمدة المعدنية.

١١.زيادة إنتاجية المحاصيل حيث تتراوح هذه الزيادة من ١٠–٣٠٪.

١٢.إفراز مواد مضادة لبعض الفطريات أو البكتريا الممرضة والتى تتواجد في منطقة الريزوسفير.

١٣.تساهم بدور فعال في تكوين الدبال.

١٤.يستطيع مثل هذه الميكروبات تحليل بقايا بعض المواد السامة مثل المبيدات.

١٥.إنتاج غذاء عالي الجودة والقيمة الغذائية.

(الباب الثالث- الفصل الثانى)

التحولات الميكروبية للكبريت

يعتبر الكبريت أحد العناصر الأساسية للنبات والحيوان، وعلي الرغم من وفرة هذا العنصر في القشرة الأرضية فإنه كثيرا ما قد يوجد في التربة إما بكميات أقل من الحد الأمثل أو في عدة صور غير ميسرة حتى أنه كثيرا ما يكون هناك استجابة لإضافة الكبريت إلي التربة في صورة أسمدة معدنية، يشكل الجزء العضوي من التربة المخزون الرئيسي من هذا العنصر، والتحولات الميكروبية هي العامل الأساسي في تحويله إلي الصورة الميسرة، فبالنسبة لهذا العنصر فإن هناك تشابها كبيرا في عمليات التحول للنيتروجين والكبريت إلي الصورة الميسرة، فالكائنات الدقيقة تعتبر العامل الوحيد المسئول عن تحويل كل من هذين العنصرين من الصورة العضوية إلي الصورة المعدنية الميسرة، ويحتوي الهواء الجوي أيضا علي كميات كبيرة من الكبريت ناتجة عن احتراق الفحم أو غازات المصانع أو حتى نتيجة نشاط الكائنات الحية الدقيقة.

وعموماً يصل الكبريت إلي التربة الزراعية من خلال:

١. بقايا النباتات وخاصة نباتات العائلة الصليبية مثل الكرنب والقنبيط .
٢. المخلفات العضوية.
٣. مياه الأمطار.
٤. الأسمدة المحتوية علي كبريتات مثل السوبرفوسفات.
٥. الكبريت الذى يضاف للتربة في صورة مخصب أو مبيد.

تعتبر الصور المختلفة من الكبريت العضوي وغير العضوى مناسبة لعمليات التمثيل الغذائى في التربة، وتتحكم الظروف البيئية التى تؤثر علي الميكروبات وعلي نشاط الكائنات الحية الدقيقة في التربة إلي درجة كبيرة في سيادة نوع من التحولات الحيوية لعنصر الكبريت علي نوع أخر.

ويمكن تحديد أربع عمليات حيوية مميزة لتحولات الكبريت فى التربة هي:

(أ) تحلل المركبات العضوية المحتوية علي الكبريت، وهي العملية التي يتحلل فيها الجزيئات الكبيرة إلي وحدات أصغر، وهذه بدورها تتحول بعد ذلك إلي مركبات غير عضوية.

(ب) عملية التمثيل الميكروبى للمركبات البسيطة من الكبريت وتحويلها إلي مواد مرتبطة داخل خلايا البكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات.

(جـ) أكسدة الايونات غير العضوية والمركبات الأخرى مثل الكبريتيدات والتتراثيونات والثيونات العديدة والكبريت المعدني.

(د) اختزال الكبريتات والأنيونات الأخرى إلي كبريتيد.

عندما تختلط البروتينات الموجودة داخل أنسجة النباتات والحيوانات بالتربة فإنها تتحلل مائيا بواسطة الميكروبات إلي أحماض أمينية، ثم تتراكم الكبريتات والكبريتيد عند مهاجمة الكائنات الدقيقة لهذه الأحماض الأمينية خاصة المحتوية على كبريت والجزيئات الأخرى المحتوية علي الكبريت، وفي الأوساط البيئية جيدة التهوية فإن الكبريت المرتبط في الصورة العضوية يتحول في النهاية إلي كبريتات، بينما يتراكم H_2S تحت ظروف غمر التربة بالماء أو تحت الظروف اللاهوائية الأخرى، ويوجد جزء من الكبريتيد المتراكم ينشأ أصلا عن اختزال الكبريتات بينما يكون الجزء الأخر منه ناتجاً من خلال معدنة الكبريت العضوي.

تتشابه التحولات الخاصة بعنصر الكبريت مع التحولات الميكروبية لعنصر النيتروجين إلي درجة كبيرة ونظراً لأن كلا من العنصرين يدخل في تكوين البروتوبلازم فإنه يجب تمثيل كل منهما خلال مراحل تكاثر الميكروبات، ويكثر وجود هذين العنصرين في التربة علي الحالة العضوية، ولذا فإنه يلزم لتحويلهما إلي صورة عناصر ميسرة أن تقوم الكائنات الحية الدقيقة بتحليل هذه المواد العضوية. كما تتأكسد مركبات الكبريت غير العضوية بطريقة تماثل عملية تأزت النشادر والنيتريت،

وأن الظروف الملائمة لاختزال الكبريتات تتشابه تماماً مع الظروف المناسبة لاختزال النترات.

معدنة الكبريت العضوي Organic sulfur mineralization

تمتص جذور النباتات عنصر الكبريت أساسا في صورة أيونات الكبريتات وذلك علي الرغم من إمكانها تمثيل العديد من الأحماض الأمينية دون سابق تحليلها، كما يعمل ثاني أكسيد الكبريت الموجود في الهواء الجوي علي إمداد النباتات أيضا بجزء من احتياجاتها من هذا العنصر، ومع ذلك فإن الكبريتات تختزل داخل أنسجة النبات إلي مجموعات السلفاهيدريل (SH−) ونظراً لاحتياج نباتات المحاصيل ومختلف النباتات الأخرى لوجود الكبريت في محيط الجذور، فإن معدنة الكبريت العضوي تعتبر أحد التفاعلات الميكروبية الهامة اللازمة لحياة الكائنات الراقية.

تعمل الميكروبات علي عدد متنوع من المركبات العضوية المحتوية علي الكبريت مثل الأحماض الأمينية الكبريتية Methionine, cysteine, cystine والجلوتاثيون والثيويوريا والثيامين والبيوتين وحمض الليبويك.

Cysteine　　Cystine　　Methionine

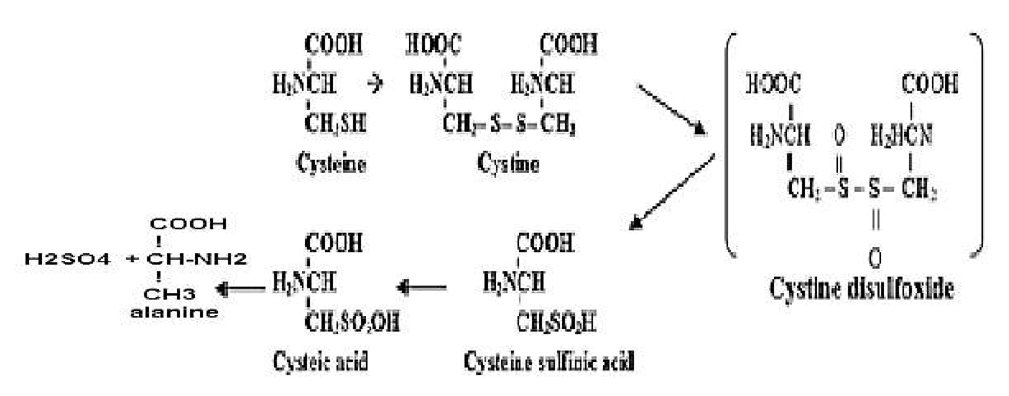
شكل ٣(٢)١:التركيب البنائى لبعض الأحماض الأمينية الكبريتية

عند إضافة بقايا النباتات والحيوانات إلي التربة يتحول الكبريت إلي الصورة المعدنية، وجزء من ناتج المعدنة تستخدمه الميكروبات لتخليق الخلايا بينما ينطلق الجزء الأخر إلي التربة، وتحت الظروف الهوائية فإن الكبريتات تكون هي الناتج النهائى غير العضوي من الكبريت، أما في غياب O_2 الهواء الجوي خصوصاً عند تحلل المواد البروتينية فإنه يتراكم H_2S ومركبات الحديد ذات الرائحة المميزة. ويوجد

كثير من الأجناس البكتيرية التي تتميز بقدرتها علي إنتاج H_2S من البروتينات المتحللة جزئياً، ولذلك من المحتمل أن تكون الكبريتيدات هي أهم المركبات الرئيسية غير العضوية التي تنتج خلال مراحل تحلل المواد البروتينية تحت الظروف اللاهوائية.

تحدث عملية معدنة الكبريت في الدبال ببطء وكثيراً ما تكون سرعة المعدنة غير كافية لمواجهة الاحتياجات الكلية للنباتات النامية من هذا العنصر،حيث نجد أن الكثير من مكونات الجزء العضوي من التربة يهاجمها الميكروبات بدرجة متساوية.

عند إضافة السيستين أو السيستئين إلي التربة جيدة التهوية فإن الكبريت الموجود داخل الحمض الأميني يتحول إلي كبريتات ويتم التحول بمعدل سريع نظراً لكثرة أنواع الكائنات الدقيقة التي تعمل علي مهاجمة هذين المركبين.



تتم أكسدة حمض سلفنيك وحمض السيستئين، المفترض وجودهما كنواتج وسطية في كثير من الأراضى، إلي كبريتيت $SO_3^{=}$ وكبريتات $SO_4^{=}$ في المزارع الميكروبية. وفي حالة تكون الكبريتيت فإنه سرعان ما يتأكسد إلي كبريتات. وهو تفاعل يتم حتى في عدم وجود نشاط ميكروبى، وتعتبر قدرة الميكروبات علي أكسدة الكبريت في السيستين إلي كبريتات من الأمور المألوفة، ولقد تم التعرف علي عديد من الفطريات النشطة في هذا المجال، وبالمثل فإنه يمكن لكثير من الكائنات غير ذاتية التغذية تحويل الكبريت الموجود في المركبات الأخرى ذات التركيب البنائى R–SH إلي كبريتات، ومن ناحية أخرى فإن هناك كثيراً من البكتريا يمكنها عند النمو

في مزارع نقية أن تقوم بنزع مجموعة السلفاهيدريل من السيستئين عن طريق إنزيم السيستئين ديسلفوهيدريز الذي يعمل علي إنتاج كميات متساوية جزئياً من حمض البيروفيك و H_2S و NH_3.

كما هو الحال بالنسبة لنشدرة النيتروجين العضوي فإن معدل تكوين الكبريت المعدنى يتأثر بمحتوى المادة من الكبريت وبنسبة C:S في هذه المادة المتحللة، تتراكم الكبريتات في التربة في حالة وجود الكبريت في المادة العضوية بكميات تتجاوز احتياجات الميكروبات من هذا العنصر، ومن التقديرات الدقيقة التي أجريت فإنه يمكن افتراض أن النسبة المئوية للكبريت الذي تتم معدنته سنوياً تماثل نسبة النيتروجين بنسبة ١- ٣٪ من المحتوى الكلى للعنصر في أراضى المناطق المعتدلة الرطبة، وأن معدل معدنة الكبريت يتأثر بنفس العوامل البيئية التي تؤثر بصفة عامة في نمو الميكروبات.

ولقد أوضحت بعض الدراسات أن عملية المعدنة لمركبات الكبريت العضوي ينتج منها كبريتات وليس كبريتيد الأيدروجين H_2S كما يلي:

Cysteine $\longrightarrow$ Cystine $\longrightarrow$ Cystine disulfoxide

Cystine disulfoxide $\longrightarrow$ Cysteine sulfinic acid

Cysteine sulfinic acid $\longrightarrow$ Alanine + Sulfate

ومما هو جدير بالذكر أن الميكروبات عندما تقوم بتحليل المادة العضوية المحتوية علي الكبريت تأخذ جزء من كبريت المادة العضوية لبناء خلاياها والباقى يحدث له معدنة Sulfur mineralization وخصوصاً عندما تكون نسبة C:S ratio في المادة العضوية ضيقة، والنسبة الحرجة للكبريت ١, ٠- ٢, ٠ وعلي العكس من ذلك فإن الميكروبات عندما تتحلل المادة العضوية المحتوية علي الكبريت بنسبة قليلة أي أن نسبة C:S ratio في المادة العضوية واسعة ١:٢٠٠ إلى ١:٤٠٠ فإنها تلجأ إلي الكبريتات الذائبة قي التربة لأن الكبريت المتواجد في المادة العضوية غير كافى لنشاط الميكروبات وفي هذه الحالة يحدث ما يسمي

Sulfur immobilization حيث يحدث نقص مؤقت في الكبريتات الميسرة لحين موت وتحلل الميكروبات وانطلاق ما بها من كبريتات مرة أخرى.

التمثيل الميكروبي للكبريت Inorganic sulfur immobilization

ويوجد الكثير من المركبات التي تستخدم كمصدر للكبريت اللازم لنمو الميكروبات، ولكن يمكن أن تتخصص السلالة الواحدة من الميكروبات في عملها علي مجموعة محدودة من هذه المركبات، فالمواد غير العضوية التي تعمل كمصدر إمداد بالكبريت تتضمن الكبريتات والهيبوكبريتيت والثيوكبريتات وفوق الكبريتات والكبريتيد والكبريت المعدنى والكبريتيت والتتراثيونات الرباعية، أما المركبات العضوية فتتضمن السيستئين والسيستين والميثيونين والتيروزين والبروتينات غير المتحللة. وتستخدم الكبريتات بإضافتها إلي البيئات الغذائية، ولكن هذا الأنيون لا يتم تكوينه في الأوساط البيئية التي تنقص كمية O_2 بها، ولذلك فإن الكائنات اللاهوائية في التربة ربما تقوم بتمثيل المركبات المختزلة من الكبريت، وبالفعل فإن كثيرا من الكائنات غير ذاتية التغذية قد تكون غير قادرة علي استخدام الكبريتات وأحياناً لا تقوم باستخدام الصور غير العضوية من الكبريت ولذا يتم تنميتها في بيئات غذائية يضاف إليها الأحماض الأمينية المحتوية علي الكبريت، تحتوى معظم الكائنات الحية الدقيقة علي الكبريت بنسبة ٠,١ – ١,٠٪ من وزنها الجاف، وأكثر مكونات الخلية المحتوية علي هذا العنصر هي الأحماض الأمينية مثل السيستين والميثيونين.

وطالما كانت كمية الكبريت في المادة أقل من احتياج نمو الميكروبات فإن هذا يؤدي إلي سيادة عملية التمثيل، أما إذا زاد محتوى المادة من هذا العنصر فسوف يؤدي ذلك إلي تكوين مركبات الكبريت المعدنية كنواتج لعملية التمثيل الغذائى.

أكسدة مركبات الكبريت غير العضوي

Oxidation of inorganic sulfur compounds

هناك عدة مركبات من الكبريت غير العضوي القابلة للتحولات الحيوية وهي علي عدة درجات من الأكسدة ابتداء من -٢ للكبريتيد إلي +٦ للكبريتات. ولا تتم جميع هذه التحولات في التربة نتيجة تفاعلات إنزيمية بل أن هناك كثيرا من الخطوات التي تتم بالطرق غير الحيوية ، فالكبريتيدات والكبريت المعدني والثيوكبريتات يمكن أن تتأكسد في التربة بالوسائل الكيميائية ببطء ولكن عند توفر الظروف الملائمة فإنها تتأكسد بواسطة الكائنات الحية الدقيقة بسرعة كبيرة. فعندما تصبح الظروف في التربة مقاربة للظروف المثلي من حيث الرطوبة والحرارة فإن التغيرات بفعل العوامل الكيميائية تكون ضئيلة جدًا إذا ما قورنت بالمعدلات العالية للتحولات الميكروبية.

ميكروبات التربة القادرة علي أكسدة الكبريت غير العضوي قد تكون ذاتية أو غير ذاتية التغذية، فالبكتريا التي تستخدم مثل هذه الجزيئات في إنتاج الطاقة معظمها يتبع جنس ***Acidithiobacillus*** وجنس ***Thiobacillus*** وهي بكتريا سالبة لصبغة جرام غير متجرثمة، فميكروب ***Acidithiobacillus thiooxidans*** ذاتي التغذية الكيميائية حتماً والذي يقوم بأكسدة الكبريت المعدنى يستطيع أن ينمو عندpH ٣.٠ أو أقل، أما ***T. thioparus*** وهو أيضاً ذاتي التغذية الكيميائية حتما فهو حساس للحموضة. أما النوع القادر علي النمو في غياب O_2 وهو ميكروب ***T. denitrificans*** فإنه يقوم باستخدام النترات كمستقبل للإلكترونات تحت الظروف اللاهوائية، أما النوع ***A. ferrooxidans*** فهو يتميز بقدرته علي استخدام إما أملاح الحديدوز أو أملاح الكبريت كمصدر للطاقة. تعمل مركبات الكبريت المعدنى والكبريتيد والثيوكبريتات والتتراثيونات الرباعية والثيوسيانات كمصادر للطاقة لنوع أو أكثر من الأنواع التابعة لهذا الجنس وهي ميكروبات ذاتية التغذية كيميائية فإنها تستوفي حاجتها من الكربون اللازم للنمو من CO_2، تعتبر جميع هذه الأنواع ذاتية التغذية حتماً حيث لا يمكنها استخلاص الطاقة من أكسدة الكربون العضوى، وللتفرقة

بين الأنواع الخمسة من هذه البكتريا فإنه يمكن استخدام رقم pH الأمثل للنمو في هذا الغرض، فدرجة الحموضة المثلي لكل من *A. ferrooxidans, A. thiooxidans* عادة ما تكون حوالى pH ٢,٠-٣,٥ بينما يفضل *T. thioparus, T. denitrificans* الوسط القريب من التعادل أو حتى الوسط المائل قليلاً للقلوية.



شكل ٣(٢)٢: بكتريا *T. denitrificans*

أفراد هذه المجموعة من الميكروبات الهوائية حتما فيما عدا *T. denitrificans* الذي يمكنه استخدام النترات كمستقبل نهائى للإلكترونات ، وهذا الميكروب عند نموه تحت الظروف اللاهوائية يقوم بتحويل النترات إلي مركبات نيتروجينية غازية ويؤكسد في نفس الوقت الثيوكبريتات أو بعض المركبات الكبريتية الأخرى، بالإضافة إلي هذه الأنواع الأساسية فإنه يمكن أيضاً عزل سلالات محبة للحرارة العالية أو محبة للتركيزات العالية من الأملاح.

يمكن توضيح التحولات التي تقوم بها هذه الميكروبات بالمعادلات التالية:

Acidithiobacillus thiooxidans

$$Na_2S_2O_3 + 2O_2 + H_2O \longrightarrow 2NaHSO_4 + Energy$$

T. thioparus

$$5Na_2S_2O_3 + 4O_2 + H_2O \longrightarrow 5Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 4S + Energy$$

$$Na_2S_4O_6 + Na_2CO_3 + ½O_2 \longrightarrow 2NaSO_4 + 2S + CO_2 + Energy$$

A. thiooxidans

$$2S + 3 O_2 + 2H_2O \longrightarrow H_2SO_4 + Energy$$

T. denitrificans

$$5S + 6KNO_3 + 2H_2O \longrightarrow K_2SO_4 + 4KHSO_4 + 3N_2\uparrow + Energy$$

وتوضع تلك البكتريا تبعا لتقسيم برجى فى المجلد الثانى الذى صدر عام ٢٠٠٥ كما يلى

Class	Alphaproteobacteria	Gammaproteobacteria
Order	Hydrogenophilales	Acidithiobacillales
Family	Hydrogenophilaceae	Acidithiobacillaceae
Genera and species	*Thiobacillus thioparus,* *T. denitrificans*	*Acidithiobacillus thiooxidans* *A. Ferrooxidans*

ولا تقتصر أكسدة الكبريت علي الميكروبات من جنس ***Thiobacillus*** وجنس ***Acidithiobacillus*** حيث أن هناك ميكروبات أخرى يمكنها القيام بنفس هذه التحولات تتبع جنس ***Sulfolobus*** وهى تؤكسد الكبريت المعدنى الموجود طبيعياً في هذه الأراضى الحمضية وتقوم بإنتاج حمض الكبريتيك عند درجات الحرارة التي تصل إلي ٥٨°م.

ومما هو جدير بالذكر أن أكسدة مركبات الكبريت غير العضوية لا تقتصر علي الأنواع سابقة الذكر فقط وإنما يوجد أجناس بكتيرية أخرى تقوم بأكسدة مركبات

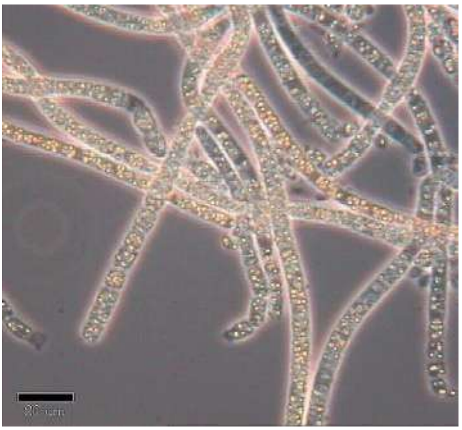
الكبريت غير العضوية بالتربة منها جنس *Beggiatoa* وهو ميكروب خيطي الشكل يقوم بأكسدة H_2S كما يلي:

$$2H_2S + O_2 \longrightarrow 2S + 2H_2O + Energy$$

$$2S + 3O_2 \longrightarrow 2H_2SO_4 + Energy$$

كذلك جنس *Thiothrix* وهو يشبه في الشكل جنس *Beggiatoa* إلا أن الخلايا الطرفية للخيوط تنقسم وتكون جراثيم تعرف بالكونيديا Conidia.





شكل ٣(٢)٣: بكتريا *Beggiatoa* & *Thiothrix*

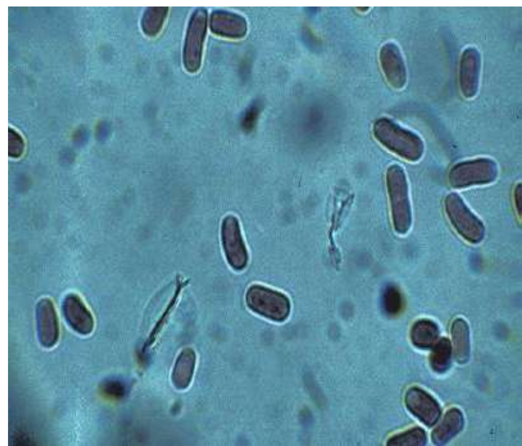
كذلك يوجد مجموعة أخرى من البكتريا تعرف بالبكتريا الممثلة للضوء Photolithotrophic bacteria وهي بكتريا لاهوائية تحصل علي الطاقة من ضوء الشمس وتكون صبغات داخل خلاياها ومنها:

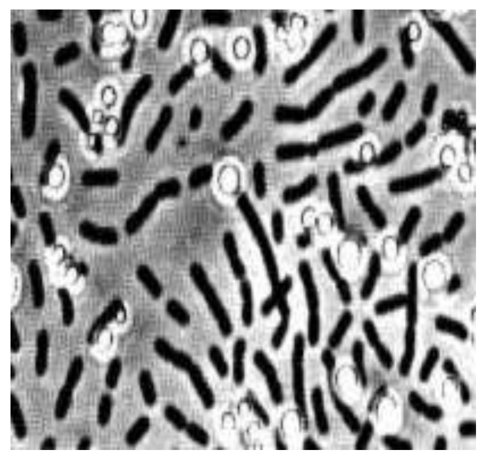
أ) بكتريا الكبريت الأرجوانية Purple sulfur bacteria: وهذه البكتريا تكون صبغات لونها أحمر أو أصفر ويترسب الكبريت داخل خلاياها وهى عصوية أو حلزونية متحركة ومن أهم أجناسها جنس *Chromatium* حيث يقوم بالتفاعلات التالية:

$$2H_2S + CO_2 \longrightarrow (HCHO) + H_2O + 2S$$

$$2S + 3CO_2 \longrightarrow 2H_2SO_4 + 3HCHO$$

ب) بكتريا الكبريت الخضراء **Green sulfur bacteria**: وهذه البكتريا تكون كلورفيل بكتيري وغير متحركة – لا ترسب الكبريت داخل خلاياها ومن أهم الأجناس جنس ***Chlorobium*** ويقوم هذا الجنس بنفس التفاعلات المذكورة سابقاً.





شكل ٣(٢)٤: بكتريا ***Chromatium* sp. & *Chlorobium* sp.**

أيضاً تقوم البكتريا غير ذاتية التغذية والأكتينوميسيتات والفطريات أيضا بأكسدة مركبات الكبريت غير العضوية، ومن المعروف أن هذه الميكروبات لا تحصل علي الطاقة من هذه الأكسدة لأن هذه التحولات تحدث بصفة عارضة في المسارات الرئيسية لعمليات التمثيل الغذائى ، فتقوم مثلا أنواع تتبع أجناس ***Arthrobacter, Bacillus, Flavobacterium, Pseudomonas*** بتحويل الكبريت المعدنى أو الثيوكبريتات إلي كبريتات، بينما تقوم أنواع من جنس ***Streptomyces*** بإنتاج الثيوكبريتات من الكبريت المعدنى، تقوم الفطريات الخيطية والخمائر بأكسدة حبيبات الكبريت الناعمة، كما تقوم كثير من البكتريا غير ذاتية التغذية في وجود العناصر الغذائية العضوية بتحويل الثيوكبريتات إلي تتراثيونات رباعية، وكقاعدة عامة فإن مثل هذه التفاعلات تكون بطيئة عن مثيلاتها التي تقوم بها بكتريا الكبريت العضوية، تقوم الفطريات الخيطية بإنتاج الكبريتات من بعض المركبات العضوية مثل السيستين والثيويوريا والميثيونين والتيروزين، والأنواع النشطة في هذا المجال تمثلها أجناس ***Aspergillus, Penicillium, Microsporum*** .

قد يكون لبكتريا الكبريت أهمية كبيرة من الناحية الزراعية من عدة نواحى خلاف دورها المحتمل في تكوين الكبريتات اللازمة لتغذية النبات، فنشاط هذه الميكروبات يعمل علي تغيير حموضة التربة مما يؤدي إلي الإقلال من الإصابة بأمراض جرب البطاطس أو تعفن البطاطا أو يؤدي إلي خفض حدة الإصابة بالمرض.

وتتسبب أكتينوبكتريا حساسة للحموضة في هذه الأمراض وهي *Streptomyces scabies* الذي يسبب جرب البطاطس و *Streptomyces ipomoeae* المسبب لتعفن البطاطا.

وتقل حدة الإصابة بالمرض عند pH أقل من ٥,٠ تقريباً، وعلي ذلك فإنه يمكن التحكم في المرض بإضافة الكبريت بكميات كافية لإحداث التفاعل إلى الدرجة اللازمة للوصول إلي مستوى الحموضة المحدد لانتشار المرض، والتحكم في مثل هذه الأمراض الناشئة بفعل الإستربتوميسيتات يكون عن طريق حمض الكبريتيك الذي تكونه بكتريا الكبريت العضوية ويستخدم الكبريت أيضا في إصلاح الأراضى القلوية بطريقة مشابهة، تتسبب أكسدة الكبريت المعدنى في إذابة معادن التربة حيث يتفاعل حمض الكبريتيك المتكون مع هذه المعادن والمواد الأخرى غير الذائبة مما يعمل علي توفير العناصر الغذائية.

اختزال مركبات الكبريت غير العضوية

Reduction of inorganic sulfur compounds

عندما تقل كمية O_2 في التربة نتيجة الغمر بالماء مثلا فإن مستوى الكبريتيد يرتفع إلي تركيزات عالية نسبيا وكثيراً ما يتجاوز 150 ppm ، في نفس الوقت يتناقص تركيز الكبريتات، وكثيراً ما يمكن تمييز منطقة في القطاع الأرضى يتراكم فيها كبريتيد الحديدوز، ويصاحب حدوث هذه العمليات زيادة في أعداد البكتريا المختزلة للكبريتات، وفي الظروف العادية فإن كثافة أعداد بكتريا اختزال الكبريتات تقل عن $١٠^{٤}$ وكثيراً ما تكون اقل من $١٠^{٣}$ في جرام التربة، ولكن تزداد الأعداد بعد حوالى أسبوعين من غمر الأراضى بالماء بحيث أنها تتجاوز عدة ملايين فى الجرام،

معظم الكبريتيد المتراكم في التربة يكون ناشئاً عن اختزال الكبريتات، بينما تنتج كمية قليلة فقط من هذا المركب نتيجة معدنة مركبات الكبريت العضوية.

والأنواع السائدة من الكائنات الحية الدقيقة في عملية اختزال الكبريتات هي البكتريا من جنس ***Desulfovibrio*** ، وهي ميكروبات غير متجرثمة، لاهوائية حتما، تقوم بإنتاج H_2S من الكبريتات بمعدلات سريعة، وعلي الرغم من التعرف علي وجود عدد من الأنواع التابعة لهذا الجنس إلا أنه يبدو أن ***Desulfovibrio desulfuricans*** وهو ميكروب عصوى منحني – سالب لصبغة جرام – غير متجرثم هو أكثر الأنواع انتشارًا في الطبيعة، يتميز هذا الميكروب بنموه في نطاق محدود من درجات الحموضة، وهو لا ينمو في البيئات الغذائية التي تزيد درجة حموضتها عن pH ٥.٥ ، وهذا ينعكس علي عدم تكوين الكبريتيد بكميات كبيرة في كثير من الأراضى الحمضية، يوجد أنواع أخرى من البكتريا المختزلة للكبريتات تتبع جنس ***Desulfotomaculum*** ، والأنواع التابعة لهذا الجنس تكون جراثيم وهي إما وسطية أو محبة للحرارة العالية وهي تماثل الأنواع من جنس ***Desulfovibrio*** في أنها تحول الكبريتات إلي كبريتيد، وعلي الرغم من أن خاصية النمو في نطاق الحرارة العالية يكثر في جنس ***Desulfotomaculum*** إلا أن هناك بعض العزلات من جنس ***Desulfovibrio*** يمكنها أيضاً النمو في درجات الحرارة المرتفعة.

يمكن للبكتريا من جنسى ***Desulfotomaculum, Desulfovibrio*** استخدام الكبريتات والمركبات الأخرى من الكبريت غير العضوي كمستقبلات للإلكترونات، لكن لا يمكنها استخدام الأكسجين الجوي أو مركبات الكبريت العضوية لهذا الغرض، وتتضمن معطيات الإلكترونات أو مصادر الطاقة اللازمة للاختزال عدداً من المواد الكربوهيدراتية والأحماض العضوية والكحولات.

$$MgSO_4 + 2CH_3{-}CH_2OH \longrightarrow H_2S + Mg(OH_2) + 2CH_3 - COOH$$

$$2CH_3{-}CHOH{-}COONa + MgSO_4 \rightarrow H_2S + 2CH_3{-}COONa + CO_2 + MgCO_3 + H_2O$$

يمكن لبعض العزلات من ميكروب ***Desulfovibrio desulfuricans*** استخدام الأيدروجين الجزيئى لاختزال الكبريتات والكبريتيت والثيوكبريتات مع استهلاك أربعة وثلاثة وأربعة جزئ جرام من H_2 لكل جزئ جرام من مستقبل الإلكترونات علي التوالى.

$SO_4^{=} + 4H_2 \rightarrow S^{=} + 4H_2O$

$SO_3^{=} + 3H_2 \rightarrow S^{=} + 3H_2O$

$S_2O_3^{=} + 4H_2 \rightarrow 2SH^{-} + 3H_2O$

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

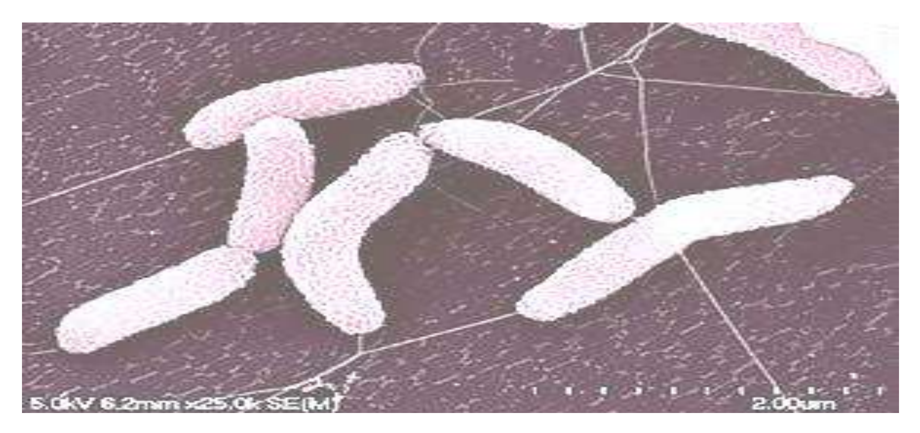
Class:Deltaproteobacteria

Order:Desulfovibrionales

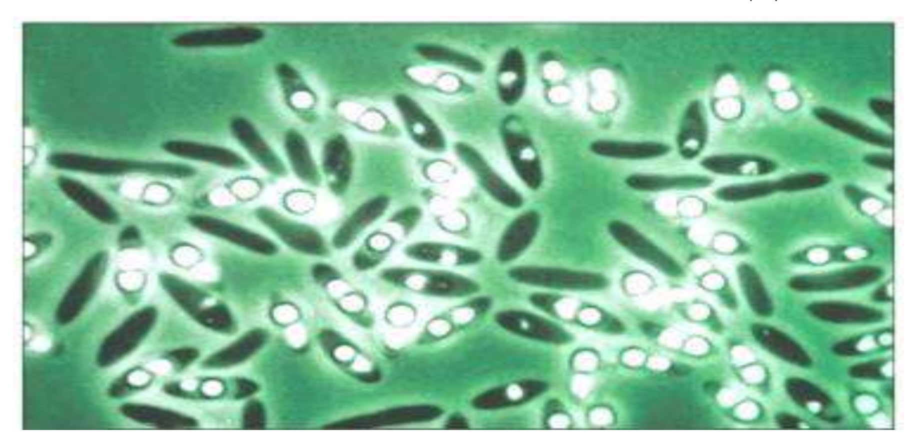
Family:Desulfovibrionaceae

Genus:*Desulfovibrio* Species:*Desulfovibrio desulfuricans*

ومع ذلك فإن هذه الميكروبات ليست من الأنواع ذاتية التغذية علي الرغم من استخدامها H_2 في عملية الاختزال ، فهي تحتاج لوجود الجزيئات العضوية كمصدر للكربون بالإضافة إلي جنسى ***Desulfotmaculuom, Desulfovibrio*** وهما من الأجناس اللاهوائية فإن هناك دلائل تشير إلي أن بعض السلالات من أجناس ***Bacillus, Pseudomonas, Saccharomyces*** تعمل علي إنتاج H_2S من الكبريتات، ولكن لم يتم التأكد بعد من أهمية هذه الأجناس الثلاثة من هذه الناحية في التربة.



شكل ٣(٢)٥: بكتريا ***Desulfovibrio desulfuricans***



شكل ٣(٢)٦: بكتريا ***Desulfotmaculuom* sp.**

Scientific classification

Domain:Bacteria **Phylum:Firmicutes**

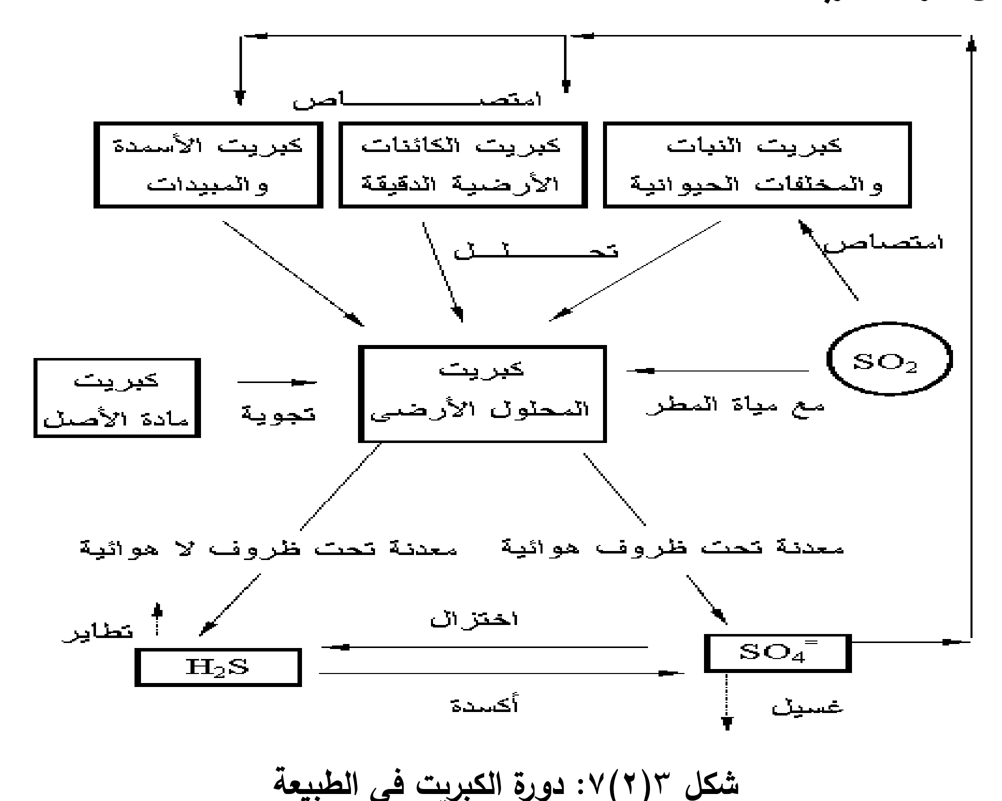
Class:Clostridia **Order:Clostridiales**

Family:Peptococcaceae **Genus:*Desulfotomaculum***

Type species:*Desulfotomaculum nigrificans*

وللكائنات الحية الدقيقة المسئولة عن خفض كمية الكبريتات الميسرة تأثير كبير علي خصوبة التربة حيث إنها تقلل من مصدر الإمداد الرئيسي للمحاصيل الزراعية بعنصر الكبريت، ومن هذا المنطلق فإن البكتريا المختزلة للكبريتات تعتبر ذات أهمية اقتصادية كبيرة، والتركيزات القليلة من نواتج التمثيل الغذائى لهذه الميكروبات تكون

ذات تأثير سام للأرز وأشجار الموالح، وهي دون شك لها نفس التأثير السام علي المحاصيل والأشجار الأخرى ذات الأهمية الزراعية، فتحت بعض الظروف الخاصة المرتبطة بغمر الأراضى بالماء أو سوء الصرف فيها فإن التأثير السام علي النبات قد يؤدي إلي خسائر اقتصادية كبيرة، ويبدو أن H_2S الحر هو الذي يسبب هذه الأضرار للجذور وأن وجود أيونات الحديدوز التي تعمل علي ترسيب الكبريتيد في صورة FeS تقلل أو تعمل علي حماية النبات من التاثير السام للكبرتيد، يمكن أيضا أن يعمل H_2S الذي تنتجه الميكروبات من جنس *Desuflovibrio* علي قتل النيماتودا والفطريات التي تعيش في الأراضى المغمورة بالماء. وقد يكون لهذه الميكروبات اللاهوائية دورا بارزا في الأراضى الملحية من المناطق الجافة. فعند غمر هذه الأراضى بالماء، فإنه ينتج عن اختزال البكتريا للكبريتات إنتاج كميات متكافئة من الكربونات وهذه بدورها تعمل علي ترسيب الكالسيوم في صورة $CaCO_3$ وبذلك تقلل من ملوحة التربة.



شكل ٣(٢)٧: دورة الكبريت في الطبيعة

(الباب الرابع–الفصل الأول)

التحولات الميكروبية للحديد Biotransformation of iron

علي الرغم من أن الحديد يعتبر أحد العناصر الغذائية الصغري بالنسبة لنمو معظم الأحياء الدقيقة في التربة إلا أن هذا العنصر يتم تحويله بسرعة عن طريق النشاط الميكروبى، ويتوفر الحديد دائماً في الأراضى حيث إنه أحد المكونات الرئيسية للقشرة الأرضية ، ومع ذلك فإنه غالبا ما يوجد في صورة غير ميسرة للنبات.

تعمل الكائنات الحية الدقيقة في مجال تحولات الحديد بعدة طرق تختلف عن بعضها تماماً، والصورة التي يوجد عليها هذا العنصر يحددها عدد من العوامل الحيوية المختلفة ومن أهم العمليات البيولوجية التى تحدث لمركبات الحديد ما يلي:

(أ) بعض الأنواع من البكتريا لها القدرة علي أكسدة مركبات الحديدوز إلي حديديك التي تترسب في صورة أيدروكسيد الحديديك.

(ب) كثير من الأنواع غير ذاتية التغذية تهاجم أملاح الحديد العضوية الذائبة وتحولها إلي صور غير عضوية قليلة الذوبان فتترسب في محلول التربة.

(جـ) تقوم الكائنات الدقيقة بتغيير جهد الأكسدة والاختزال في محيط وجودها، ويؤدي انخفاض جهد الأكسدة والاختزال الناشئ عن النمو الميكروبى إلي تحويل أيونات الحديديك غير الذائبة إلي حد بعيد إلي مركبات الحديدوز الأكثر ذوباناً.

(د) تقوم أعداد لا حصر لها من البكتريا والفطريات بإنتاج الأحماض مثل الكربونيك والنيتريك والكبريتيك بالإضافة إلي الأحماض العضوية وهذه جميعها تؤدي إلي زيادة الحموضة التي تعمل علي تحويل الحديد إلي صورة ذائبة.

(هـ) تحت الظروف اللاهوائية يمكن أن يعمل الكبريتيد المتكون من الكبريتات أو من مركبات الكبريت العضوية علي إزالة الحديد من المحاليل بترسيبه علي صورة كبريتيد حديدوز.

(و) كثيراً ما يتسبب إنتاج الكائنات الدقيقة لبعض الأحماض العضوية ونواتج التمثيل الغذائى الكربونية الأخرى في تكوين مركبات حديد عضوية ذائبة.

أكسدة الحديدوز بواسطة الميكروبات

Ferrous oxidation by microorganisms

يعتبر ميكروب *Acidithiobacillus ferrooxidans* قادر على إنتاج الحديد من خام الكبريتيد بالطرق الحيوية، وتعتبر قدرة هذه البكتريا علي أكسدة أملاح الحديدوز عند pH 3.5 في غياب المواد العضوية دليلا واضحا علي التغذية غير الذاتية لهذا الميكروب، وهي ظاهرة يندر إثباتها في كثير من الكائنات الحية الدقيقة التي تتكون علي أسطح خلاياها ترسيبات من أملاح الحديديك عند النمو في محاليل ذات pH متعادل. فعند درجة الحموضة القريبة من التعادل تصبح أملاح الحديدوز قابلة للأكسدة بالطرق غير الحيوية وقد تترسب علي خلايا الميكروبات، وتتم أكسدة أملاح الحديدوز بواسطة *A. ferrooxidans* الذاتي التغذية الكيميائية عند رقم pH يتراوح ما بين 2.0 – 4.5 وتكون الدرجة المثلي في حدود 2.5 – 3.5 pH تقريبا، وأن هذا المدي من درجات الحموضة يدل علي أن نشاط الميكروب يقتصر علي الأراضي الحمضية فقط، وتختلف سلالات هذا الميكروب في النطاق الملائم من درجات الحموضة وأيضا في درجة الحموضة المثلي لنشاطها، إلا أنها جميعاً يقتصر وجودها علي الظروف الحمضية.



شكل ٤(١)١: بكتريا *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Acidithiobacillia

Order:Acidithiobacillales

Family:Acidithiobacillaceae

Genus:*Acidithiobacillus*

Species:*Acidithiobacillus ferrooxidans*

ويمكن تصوير التفاعل المنتج للطاقة اللازمة لنمو *A. ferrooxidans* بعدة طرق، فهي تحصل علي الطاقة عن طريق عمليات هوائية يتأكسد فيها الحديدوز إلي حديديك.

$$4Fe^{++} + O_2 + 4H^+ \rightarrow 4Fe^{+3} + 2H_2O$$

حديدوز حديديك

وبذلك يمكن أن يكون الناتج الرئيسي هو كبريتات الحديديك، وأحيانا ما تكتب المعادلة التي تمثل إنتاج الطاقة بحيث تتضمن وجود هذا الجزئ.

$$4FeSO_4 + O_2 + 2H_2SO_4 \rightarrow 2Fe_2(SO_4)_3 + 2H_2O$$

وغالباً ما تغلف خلية الميكروب بأيدروكسيد الحديديك وأنه من المحتمل أن ينشأ ذلك من تفاعلات غير حيوية يمكن لهذه البكتريا أن تنمو وتستخلص الطاقة من أكسدة الحديدوز، وكما يدل اسم الجنس لهذا الميكروب فإنه يقوم بأكسدة الكبريت غير العضوي، ويمكن لكثير من سلالاته استخدام الكبريتيد والكبريت والثيوكبريتات، وبالفعل فإن هذا الميكروب ذاتي التغذية لذلك فإنه غالبا ما يكون له القدرة علي أكسدة كل من أيونات الحديدوز والكبريتيد.

وتشارك الكائنات غير ذاتية التغذية أيضا في ترسيب أملاح الحديديك، ولكنه من غير الواضح تماما ما إذا كان التفاعل الذي يؤدي إلي ظهور الحديديك في مثل هذه الحالات هو تفاعل إنزيمي أم لا، قد تستخدم الكائنات غير ذاتية التغذية كمية قليلة فقط من الطاقة الناتجة عن الأكسدة أو قد لا تستخدمها علي الإطلاق.

$$Fe_2(SO_4)_3 + 6H_2O \rightarrow 2Fe(OH)_3 + 3H_2SO_4$$

تحلل مركبات الحديد العضوية

Degradation of organic iron compounds

تعتبر عملية ترسيب الحديد الموجود في عدد من المركبات العضوية الذائبة في الماء أكثر الوسائل أهمية في مجال التحولات المؤدية إلي تغيير الصورة الميسرة من هذا العنصر. فالجزء العضوي من الجزئ يعمل علي إمداد الميكروبات بالطاقة اللازمة لنموها، وعند انتهاء تحلل الشق العضوي من المركب ينفرد الحديد ويترسب في صورة أملاح الحديديك غير الذائبة، لهذا فإن ترسيب هذا العنصر ينتج بصورة مباشرة بفعل الميكروبات علي الجزء العضوي من المركب أكثر منه بفعلها علي الحديد الموجود داخله.

والميكروبات المسئولة عن العملية وهي أساساً البكتريا واسعة الانتشار في التربة فهناك الكثير من السلالات التي تتبع مختلف الأجناس التي يمكنها بهذه الوسيلة إزالة الحديد من محلول التربة عن طريق مهاجمتها للشق العضوي من الأملاح. والميكروبات النشطة في ذلك هي بعض الأنواع من أجناس البكتريا ***Pseudomonas, Bacillus, Serratia, Acinetobacter, Klebsiella, Mycobacterium, Corynebacterium*** وكذا عدد من الفطريات الخيطية وأنواع من جنسى ***Nocardia, Streptomyces***.

اختزال مركبات الحديد Reduction of iron compounds

توجد معظم كميات الحديد في الأراضي الجيدة الصرف في صورة مركبات علي درجة عالية من الأكسدة، فلا يوجد سوي كميات صغيرة فقط من أيونات الحديدوز، وعند تشبع التربة بالماء أو تحولها بوسيلة أخرى إلي الظروف اللاهوائية فإن محتواها من الحديدوز يرتفع بسرعة ويكون ذلك راجعاً بأكمله إلي تأثير العوامل الحيوية، حيث إنه في حالة تعقيم الأراضي المشبعة بالماء لا يحدث مثل هذا التغيير علي الإطلاق أو قد يحدث مجرد تغير طفيف فقط.

يوجد عدة طرق تؤدي إلي الاختزال الميكروبي لأملاح الحديديك وأحداث الأثر المنشط لوجود المواد القابلة للتخمر، فتكون زيادة الحموضة المصاحبة لعمليات التخمير مناسبة لتحول الحديد، أضف إلي ذلك أن نقص الأكسجين نتيجة عمليات التمثيل الغذائي الميكروبي تعمل علي خفض رقم Eh الوسط مما يؤدي إلي اختزال الحديديك، ومن المحتمل وجود طريقة أخرى لإحداث مثل هذا التحول وهي التفاعل المباشر لنواتج التخمر مع أيدروكسيدات أو أكسيد الحديد، كما يمكن من ناحية أخرى أن ينشأ الاختزال عن طريق انتقال الإلكترونات فيعمل الحديد كمستقبل للإلكترونات أثناء تنفس الخلية الميكروبية بطريقة تماثل ما يحدث عند اختزال النترات بواسطة بكتريا انطلاق النيتروجين.

يقوم كثير من البكتريا بتحويل جزء من $Fe(OH)_3$ أو أكسيد الحديديك المضاف إلي البيئات الغذائية العضوية إلي صورة ذائبة في المحلول وذلك عند النمو في وجود تركيز أقل من المستوى الأمثل من الأكسجين، ولا تعتبر مثل هذه التحولات التي ينتج عنها إنتاج الحديدوز ميزة مقصورة علي جنس معين من الميكروبات، بل هي شائعة في أنواع متباينة من الميكروبات، تتراوح أعداد البكتريا التي لها القدرة علي الاختزال النشط للحديد ما بين $10^4 - 10^5$ في الجرام وأحيانا ما تصل إلي 10^6 في الجرام، وأن نسبة عالية قد تصل إلي ١٠٪ من المجموعات البكتيرية النامية علي أطباق الأجار المحضرة من تخفيفات التربة تشارك في عملية الاختزال.

من الأجناس التي تشتمل علي أنواع قادرة علي تحويل الحديديك إلي حديدوز *Bacillus, Clostridium, Klebsiella, Pseudomonas, Serratia* تقوم بعض الأنواع بإنتاج الحديد ثنائى التكافؤ وذلك عندما تصل الحموضة إلي درجة معينة في المنبت الغذائى، ولذلك فإن pH الوسط علي الأقل في مثل هذه الحالة يحتمل أن يكون هو المسئول عن عملية التحول، وفي البعض الأخر من الميكروبات لا تحدث زيادة في درجة الحموضة وبذلك تكون هناك وسيلة أخرى غير الحموضة هي التي تعمل علي الاختزال. وبالنسبة لبعض الميكروبات الهوائية كما في حالة *Fusarium oxysporum* فإن وجود أملاح الحديديك قد يسمح بحدوث بعض النمو في غياب الأكسجين ومن أهم البكتريا التى لها القدرة علي اختزال الحديد ما يلي:

Bacillus circulans, Enterobacter aerogenes and *Escherichia freundii.*

يبدو أن تحول الحديد الثلاثى التكافؤ إلي الحالة الثنائية التكافؤ ينشأ عن فعل الإنزيمات، وذلك علي الأقل في حالة بعض الأنواع غير ذاتية التغذية حيث تعمل أيونات الحديديك كمستقبل للإلكترون في علمية التنفس، فقد يحل الكاتيون الثلاثى التكافؤ محل الأكسجين في عمليات التمثيل الغذائى الخلوى عندما لا يتيسر وجود الأكسجين، يعمل وجود النترات في المزارع علي تثبيط القدرة علي اختزال الحديد لكثير من الأنواع النشطة، وذلك بالإضافة إلي أن كثيراً من الأنواع المختزلة لأيونات الحديديك وليست جميعها، تستطيع أيضاً تحويل النترات إلي نيتريت وعلي هذا الأساس فقد أصبح من المسلم به أن الاختزال الإنزيمي للحديد يتم بإحدى طريقتين:

(أ) يحدث الاختزال في حالة بعض الأنواع غير ذاتية التغذية عن طريق نفس الإنزيم المختص بإنتاج النتريت من النيترات وهو إنزيم Nitrate reductase .

(ب) أن تتضمن عملية التحول وجود أحد الإنزيمات التي لا تعمل في عمليات تمثيل النترات.

ويوجد إحدي الظواهر التي يحتمل أن يرتبط وجودها بعمليات التمثيل الغذائي الميكروبي للحديد وهي تعرف بظاهرة Gleying ، فالأماكن التي تظهر فيها في قطاع التربة تكون لزجة ذات لون رمادى أو أزرق مخضر فاتح وذات رائحة كريهة، وهي تحدث عندما يرتفع مستوى الماء الأرضي ويرتبط وجود مثل هذه الأفاق بصفة خاصة بالأماكن الغدقة، ويعزي وجود هذه الظاهرة إلي إنتاج كبريتيد الحديدوز FeS تحت الظروف اللاهوائية نتيجة تفاعل الحديد مع نواتج التمثيل الغذائي للاختزال الميكروبي للكبريتات، وفي النماذج المعملية المصممة لمحاكاة هذه الظواهر يتم تحضين خليط من تربة طينية ومحلول من السكر تحت الظروف اللاهوائية بدرجة جزئية أو كلية، ونتيجة نشاط البكتريا يحدث قصر في لون الطين مع ظهور الحديد في المحلول المتخمر ويختلف لون الطين من تربة لأخرى فأحيانا ما يكون أبيض أو رمادياً أو بنياً، في الأراضي المعاملة بالجلوكوز مع غمرها بالماء فإن معدل اختفاء السكر ومعدل تكوين الحديدوز يتبع كلاهما منحني يماثل المنحني الخاص بالنمو البكتيري وتحدث أعلي معدلات لكل من هاتين العمليتين في نفس الوقت، وهذا يشير إلي أن البكتيريا هي العامل المسئول عن حدوث ظاهرة Gleying ، وبالفعل فإن الطين في هذه الحالة يحتوي علي أعداد كبيرة من البكتريا المختزلة للحديد قد تصل إلي 10^7 في الجرام، وفي مثل هذه المواقع التي تمت دراستها وجد أن الأنواع السائدة من البكتريا الهوائية أو اللاهوائية اختياراً المختزلة للحديد تتبع جنسى *Bacillus, Pseudomonas*.

هناك عملية حيوية أخرى هامة بالنسبة لتحولات الحديد يمكن أن تحدث في غياب الأكسجين وهي إنتاج الكبريتيد أما من خلال معدنة كبريتات مركبات الكبريت العضوية أو عن طريق اختزال الكبريتات، الكائنات الحية الدقيقة المنتجة لكبريتيد الأيدروجين تعمل علي ترسيب الحديد في صورة كبريتيد الحديدوز بتفاعل كبريتيد الأيدروجين مع أملاح الحديد، ويمكن تمييز الميكروبات المسئولة عن ذلك بسهولة عند نموها علي بيئات الأجار الغذائية المحتوية علي لاكتات الحديد وكبريتات الأمونيوم حيث تكون المجموعات النامية محاطة بهالة داكنة من FeS . كما يترسب

الحديد أيضا في البيئات الغذائية الغنية بالحديد نتيجة انطلاق الأيدروجين بفعل الميكروبات أثناء تحلل البروتين أو الجزيئات الأخرى المحتوية علي الكبريت.

تتعرض المواد المصنوعة من الحديد أو الصلب للتأكل تحت ظروف نقص الأكسجين، ويمكن أن تصل حدة التآكل إلي الدرجة التي تصبح معها المواسير الحديدية عديمة الفائدة بعد سنوات قليلة، والخسائر الاقتصادية الناجمة عن تلف المواسير المدفونة في باطن الأرض قد تصل إلي مئات الملايين من الدولارات سنوياً، ويرجع جزء علي الأقل من التلف لتأثير الكائنات الحية الدقيقة وتزداد حدة التآكل علي وجه الخصوص في الأراضي السيئة الصرف حيث تظل التربة رطبة لفترات طويلة. أضف إلي ذلك أن هناك علاقة مباشرة بين جهد الأكسدة والاختزال وحدوث التلف وشدة تأكل المواسير الحديدية تحت الظروف اللاهوائية ولا يظهر مثل هذا التأكل في الأراضي التي يصل جهد الأكسدة والاختزال فيها إلي Eh أكثر من 400 mv ، وعادة ما يكون التلف قليلا عند 400-200 mv ومتوسطاً عند 100-200mv ، بينما تزداد حدة التلف دائما في الأوساط البيئية ذات جهد الأكسدة والاختزال الأقل من 100mv.

مما لا شك فيه أن التأثير يرجع إلي فعل مجموعات البكتريا من جنس *Desulfovibrio* المختزلة للكبريتات وهي التي تعمل علي إحداث تحولات في عنصر الحديد بترسيبه في صورة كبريتيد الحديدوز، ولما كانت هذه البكتريا من الأنواع اللاهوائية حتماً والتي تستخدم الكبريتات عند نموها كمستقبل للإلكترون، فإنه يصبح من الواضح أهمية وجود الكبريتات وانخفاض رقم Eh الوسط والظروف اللاهوائية في إحداث التغيرات، ويعتبر مدى الحموضة المناسب لنشاط هذه البكتريا مساوياً لنفس رقم الأس الأيدروجيني الملائم لتأكل الحديد وهو حوالى pH 5.5 أو أكثر والنتيجة النهائية للتفاعل يمكن توضيحها بالمعادلة التالية:

$$4Fe + SO_4^{=} + 4H_2O \longrightarrow FeS + 3Fe(OH)_2 + 2OH^-$$

حيث يتكون كبريتيد الحديدوز وأيدروكسيد الحديدوز كنواتج للتفاعل.

التحولات الميكروبية للبوتاسيوم

يعتبر البوتاسيوم أحد الكاتيونات الرئيسية التي يجب أن يحصل عليها النبات من التربة، ولما كانت كميته في الأرض كثيراً ما تكون غير كافية فإن هذا العنصر يعتبر أحد العناصر الغذائية الكبرى التي تضاف في صورة أسمدة كيميائية. وعلي الرغم من الأهمية الزراعية للتحولات الميكروبية لهذا العنصر فإنه لم يعرف سوى القليل عن تحولات البوتاسيوم الناتجة عن فعل الكائنات الدقيقة التي تعيش في التربة.

ومن السهل أن يحتجز عنصر البوتاسيوم في مكونات التربة ولكن التفاعلات المختلفة المؤدية إلي ذلك لم يتم تحديدها بدرجة كافية، ويوجد جزء من المخزون الأرضي من هذا العنصر في صورة ذائبة، بينما يوجد الجزء الأكبر منه مرتبطا داخل التركيب البنائي لبعض المعادن في صورة غير متبادلة، أما المصادر الخارجية من البوتاسيوم فهي الأسمدة الزراعية وأنسجة النباتات والحيوانات وفي مخلفات المحاصيل لا يكون العنصر مرتبطاً بقوة داخل التركيب العضوي حتى أن ذلك لا يسبب صعوبة في انفراد البوتاسيوم من خلال تحلل المادة العضوية بفعل الميكروبات علي عكس الحال بالنسبة لمعدنة النيتروجين أو الكبريت المرتبطان في صورة عضوية. أضف إلي ذلك أن العنصر يوجد فقط في حالة أحادية التكافؤ داخل النظم الحيوية، وعلي ذلك فإنه لا يوجد حالات من الأكسدة والاختزال للصور غير العضوية منه كالمميزة للتحولات الميكروبيولوجية للنيتروجين والكبريت والحديد.

إذابة مركبات البوتاسيوم

Potassium solubilization compounds

يوجد بعض الأنواع من البكتريا التي يمكنها تحليل معادن الألومينوسليكات مع انفراد كمية من البوتاسيوم الموجود بداخلها، وتنمي هذه الميكروبات في أوساط غذائية خالية من البوتاسيوم ومضافاً إليها الألومينوسليكات غير الذائبة، تشتمل هذه المجموعة من الكائنات الحية الدقيقة علي أنواع تتبع جنسى ***Bacillus,***

Pseudomonas **من البكتريا بالإضافة إلي أجناس *Aspergillus, Mucor, Penicillium* من الفطريات، وعلي أى حال فإن هناك مجاميع أخرى من البكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات التي تعمل علي انفراد البوتاسيوم بهذه الطريقة عند النمو في مزارع ميكروبية، وتتوقف كمية البوتاسيوم الناتجة إلي حد كبير علي نوع الميكروب، وبذلك فإنه يمكن إذابة البوتاسيوم من البيوتيت والمسكوفيت والميكروكلين والأورثوكلاز، كما يحدث ذلك أيضا دون شك لعدد أخر من المعادن السليكاتية ومن أهم الميكروبات في هذا الصدد *Bacillus circulans*.**

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Firmicutes

Class:Bacilli

Order:Bacillales

Family:Bacillaceae

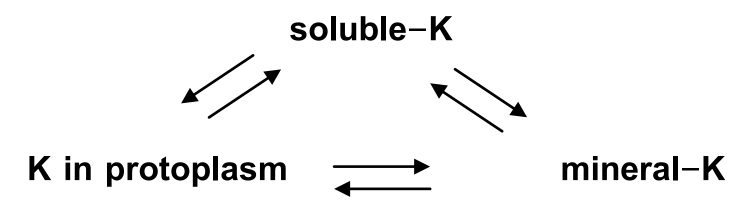
Genus:*Bacillus*

Species:*Bacillus circulans*

يعتبر إنتاج الأحماض الوسيلة الأساسية لإذابة البوتاسيوم غير الذائب الموجود في المعادن، وأهم الأحماض في مجال إذابة البوتاسيوم هي الكربونيك والنيتريك والكبريتيك والعديد من الأحماض العضوية، يتكون حمض الكربونيك من ثاني أكسيد الكربون الذي ينتجه عدد كبير من الكائنات غير ذاتية التغذية، وأن الكثير من المزارع الميكروبية التي لا تكون أحماضا يمكنها إذابة البوتاسيوم عن طريق إنتاجها لثاني أكسيد الكربون، بعض الكائنات الحية الدقيقة مثل *Aspergillus niger, Clostridium pasteurianum* تعتبر من الأنواع النشطة وذلك بسبب تخليقها للأحماض العضوية. كما أن إنتاج حمض النيتريك أو

الكبريتيك عن طريق عمليات التمثيل الغذائي للبكتريا ذاتية التغذية له نفس التأثير من حيث إذابة البوتاسيوم، ولقد وجد أن حمض الكبريتيك والنيتريك المتكونة من الكبريت والنشادر هي من العوامل الفعالة في الإذابة، وقد استغلت عملية الأكسدة الناتجة عن فعل الكائنات ذاتية التغذية في إنتاج البوتاسيوم من الرمل الأخضر وهو الرمل الرطب الغني بالمواد العضوية الذي عند تخمره في وجود الكبريت ينفرد منه البوتاسيوم في صورة ذائبة مما يؤدي إلي زيادة إنتاجية المحاصيل.

ويمكن أن تنفرد بعض كميات البوتاسيوم من معادن الطين نتيجة تغير الاتزان بين الصورة الذائبة وغير الذائبة الناشئ عن إزالة الكائنات الدقيقة لهذا الكاتيون من محلول التربة.



في مثل هذه الحالة فإن البوتاسيوم الناتج من معادن الطين والمستخدم لاستيفاء حاجة الميكروبات الغذائية سوف يصبح في النهاية في صورة ميسرة عند تحلل خلايا الميكروبات وانفراد البوتاسيوم منها في صورة كاتيونات ذائبة.

تمثيل البوتاسيوم Potassium assimilation

كقاعدة عامة فإن الكائنات الحية الدقيقة تحتاج لنفس الأيونات غير العضوية التي تحتاجها النباتات الراقية، لذلك فإنه من المتوقع أن تكون هناك منافسة بين الميكروبات والنباتات في الأوساط البيئية التي تحتوي علي قدر من العناصر الغذائية اقل من الحد الأمثل، ومن السهل التعرف علي المنافسة بين الكائنات الحية الدقيقة في التربة وبين المحاصيل علي عنصر النيتروجين ولكنه من الصعب إثبات حدوث مثل هذه المنافسة علي البوتاسيوم .

تتغير كمية البوتاسيوم غير الذائب في الماء والبوتاسيوم غير المتبادل في التربة حتى مع الاحتفاظ بالظروف الفيزيائية والكيميائية في حالة ثابتة نسبياً، وبسبب هذا التغيير فهناك افتراض نظرى بأن جزء من البوتاسيوم غير المتبادل ينشأ عن أصل ميكروبى، أى أن البوتاسيوم يتم تمثيله داخل مكونات البروتوبلازم ، علي ذلك فإنه يبدو أن الكائنات الحية الدقيقة تشارك في خفض تركيز البوتاسيوم الميسر. وفي هذا المجال أيضاً فإنه من المفترض أن يتسبب زيادة نشاط التحولات الميكروبية نتيجة إضافة الجير للتربة في خفض كمية البوتاسيوم المتبادل.

يعتبر البوتاسيوم عنصراً أساسياً لنمو جميع أنواع الكائنات الحية الدقيقة، فيجب عليها خلال مراحل تكاثرها في التربة أن تقوم بتمثيل هذا العنصر حتى وإن كانت هي نفسها من الأنواع المذيبة للبوتاسيوم، ولتحديد مدى تمثيل الميكروبات لهذا العنصر فإنه يجب أن تتوفر البيانات اللازمة عن كمية المادة العضوية القابلة للتحلل وكفاءة تحويل كربون المادة إلي كربون بداخل الخلية بالإضافة إلي معرفة محتوى الخلايا الميكروبية من البوتاسيوم، وعادة ما تحتوي الكائنات الدقيقة علي البوتاسيوم بنسبة ٥,. – ٣٪ من وزنها الجاف، غير أنه قد وجد في بعض الحالات بنسب أعلي أو أقل من ذلك، وإذا فرض مثلا أنه أضيف إلي التربة ١٠٠٠ كيلو جرام من مادة عضوية سهلة الأكسدة تحتوى علي ٤٠٪ من وزنها كربون فإن هذا يعني وجود ٤٠٠ كيلو جرام بنسبة ٥٠٪ من كتلتها الكلية وأن الميكروبات تقوم بتمثيل ٣٠٪ من كربون المادة العضوية، نجد أن الكربون الميكروبى المتكون يصبح ١٢٠ كيلو جرام أو بمعني أخر تكون كتلة الخلايا عبارة عن ٢٤٠ كيلوجرام. فإذا ما كانت هذه الميكروبات في مجموعها تحتوى علي البوتاسيوم بنسبة ١ – ٢٪ فإن الكمية الممثلة من هذا العنصر ستكون ٢,٤–٤,٨ كيلوجرام .

(الباب الرابع- الفصل الثانى)

التحولات الميكروبية للمنجنيز

١- أكسدة المنجنيز   Oxidation of manganese

يعتبر المنجنيز أحد العناصر الغذائية الصغرى اللازمة لنمو النباتات الراقية. ويوجد هذا العنصر في عدة درجات من الأكسدة تختلف في مدى تيسرها للنبات، ولهذا فإن مقدرة الكائنات الحية الدقيقة علي تحويل المنجنيز تعتبر ذات أهمية كبيرة، ويوجد المنجنيز في التربة في الصورة رباعية التكافؤ، كما يوجد أيضاً علي حالة أيونات المنجنيز ثنائية التكافؤ، ومن المعروف أن النباتات تقوم بتمثيل المنجنوز الثنائى التكافؤ وهو الصورة الذائبة القابلة للاستفادة، كما أنه من المفترض عدم استخدامها لأيونات المنجنيك الرباعية التكافؤ. والكاتيون المتبادل Mn^{++} ذائب في الماء بينما يكون Mn^{+4} غير ذائب أساساً وهو غالباً ما يوجد في صورة أكاسيد المنجنيك ذات التركيب MnO_2، وتوجد أيضاً الصورة الثلاثية التكافؤ من هذا العنصر في الطبيعة، ويمكن أن توجد كمية كبيرة من هذا العنصر مرتبطة علي حالة عضوية.

يمكن توضيح حدوث عملية الأكسدة معملياً بإضافة جزء من التربة علي سطح أحد بيئات الأجار الغذائية المحتوية علي كربونات المنجنيز $MnCO_3$ ، حيث يتم التعرف علي فعل الكائنات الحية الدقيقة عندما تتكون بقع بنية في الأجار. فمن مميزات الميكروبات النشطة في هذا المجال تكوينها للبقع البنية الداكنة في البيئات الغذائية المحتوية علي كبريتات المنجنيز $MnSO_4$ أو $MnCO_3$ وذلك نتيجة تراكم أكسيد المنجنيك وتتضمن الميكروبات النشطة أنواعا بكتيرية من أجناس *Arthrobacter, Bacillus, Corynebacterium, Klebsiella,Pseudomonas* وأجناس *Cladosporium, Fusarium, Cephalosporium,* من الفطريات، وقد وجدت أنواع من أجناس أخرى من الفطريات والأكتينوميسيتات تقوم بنفس العمل في المزارع الميكروبية لها.

والأدلة على أن الكائنات الحية الدقيقة تحصل علي الطاقة اللازمة لنموها من أكسدة أيونات المنجنوز قليلة ولهذا فإن تكاثر مثل هذه الأنواع النشطة عادة أو دائماً ما يحتاج لوجود كربون عضوى، وعلي الرغم من أن عملية الأكسدة تؤدي إلي إنتاج الطاقة فإن وجود بكتريا المنجنيز ذاتية التغذية الكيميائية مازال موضع شك. وقد أوضحت بعض الدراسات أن التغذية الذاتية المرتبطة بعمليات التمثيل الغذائى للمنجنيز توجد في جنس *Sphaerotilus* وهو نوع من البكتريا التي تعيش في الماء. تختلف أعداد الميكروبات المؤكسدة للمنجنيز اختلافاً كبيراً تبعاً لنوع التربة ولكنها كثيراً ما تمثل ٥ –١٥٪ من الأعداد الكلية للميكروبات الحية، وتتأثر الأعداد تبعاً للقرب أو البعد عن جذور النباتات فتزيد أعداد الميكروبات النشطة في المنطقة الواقعة تحت تأثير الجذور، وتقوم الكائنات الحية الدقيقة بأكسدة أملاح المنجنوز في الظروف الحمضية حتى pH 5.5 وفي الظروف القلوية حتي pH 8.9، وهذه التحولات الحيوية ليست حساسة للحموضة ولكنها تتم بسرعة أكبر عند pH 6.0 – 7.5 ، والأنواع المختلفة من هذه الميكروبات قد تكون حساسة لتركيز أيون الأيدروجين وأن هناك كثيراً من الأنواع التي تقوم بعملية الأكسدة تحت ظروف الحموضة الخفيفة.

٢– اختزال المنجنيز Reduction of managanese

كثير من البكتريا تعمل علي اختزال MnO_2 في المزارع الميكروبية علي حالة نقية وذلك في وجود عناصر غذائية عضوية قابلة للأكسدة، في هذه الحالة فإن MnO_2 يمكن أن يعمل كمستقبل للإلكترون بالنسبة لإنزيمات التنفس ويحل محل الأكسجين كما يلى:

$$RH_2 + MnO_2 \longrightarrow Mn(OH)_2 + R$$

وعلي ذلك فإن تنفس الخلية يمكن أن يرتبط بهذه الطريقة بنظام المنجنيك – المنجنوز، وقد أمكن عزل مستحضرات الإنزيم التي تعمل علي اختزال MnO_2 من البكتريا، ويؤدي توفر العناصر الغذائية الكربونية في التربة إلي العمل بنفس الطريقة

علي اختزال أكسيد المنجنيك حيث أن وجودها يزيد الحاجة لمركبات تعمل كمستقبلات للإلكترون، من ناحية أخرى فإن نواتج التمثيل الغذائي الميكروبي يمكن أن تشارك هي الأخرى في عملية التحول لأن بعض هذه النواتج تقوم بإحداث تحول غير إنزيمي للمنجنيز الرباعي التكافؤ إلي الصورة الثنائية التكافؤ، وقد وجد أن نسبة عالية من البكتريا والأكتينوميسيتات والفطريات المعزولة من التربة لها القدرة علي إحداث مثل هذا التفاعل (تحول المنجنيز الرباعى إلى ثنائى التكافؤ) عند نموها في مزارع ميكروبية مثل أنواع من البكتريا تتبع أجناس *Bacillus, Closrtridium, Pseudomonas, Micrococcus*.

تكوين الأحماض المختلفة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة تزيد من تحول المنجنيز إلي الصورة الميسرة وذلك بسبب تأثير أيون الأيدروجين علي اتزان المنجنوز – المنجنيك، لذلك فإنه من الطبيعي أن يزيد محتوي التربة من المنجنيز الثنائى التكافؤ عقب إضافة الكبريت أو الثيوكبريتات لأن تكون حمض الكبريتيك بالطرق الحيوية يجعل العنصر ميسراً للمحاصيل بدرجة أكبر وأن ذلك كثيرا ما يعمل علي اختفاء أعراض نقص المنجنيز.

يتضح من ذلك أن هناك دورة للمنجنيز في التربة وأن هذه الدورة تتضمن وجود الصور الثنائية والرباعية التكافؤ مع احتمال وجود صور أخرى من الأكسدة لهذا العنصر، ويتوقف وجود إحدى هذه الصور في التربة علي الحموضة ووجود الأكسجين علاوة علي توفر المادة العضوية ومدي ملائمتها للتحلل الميكروبي، عندما ينخفض رقم pH التربة عن ٥,٥ تصبح أيونات Mn^{++} هي السائدة وذلك نتيجة الاتزان الكيميائي، وزيادة pH الوسط عن ذلك يعمل علي إدخال دور المؤثرات الحيوية في هذا المجال ويبدأ تكوين MnO_2 والأكاسيد الأخرى من المنجنيز وفي وجود نفس المدي من درجات الحموضة فإن عملية الاختزال الحيوي تعمل علي إعادة تكوين المنجنيز الثنائي التكافؤ، أما في حالة زيادة pH الوسط عن 8.0 فإن الأكسدة الذاتية الكيميائية تناسب تكوين الصور المؤكسدة من هذا العنصر.

التمثيل الميكروبى للعناصر الأخرى

عنصر الزنـــك

لعنصر الزنـك أهميـة حيويـة لـدوره فـي تغذيـة النبـات إلا أن وصوله بكميات ضخمة إلي الأرض نتيجة إضافة مخلفات المجارى الصلبة مثلاً أثار التساؤل بشأن التأثير الكامن لهذا العنصر بالنسبة للنبات، وهناك احتياج لعنصر الزنك أو قد يكون لهذا العنصر تـأثير منشط لنمو عدد من الفطريات والخمائر والبكتريا، وقد ثبت بالتحليـل وجـود الزنـك فـي خلايـا الميكروبـات ونظراً للاحتيـاج القليـل جـداً مـن هـذا العنصر في البيئات الغذائية السائلة فإن التمثيل الميكروبى لهذا العنصر يحتمل ألا يكون له بالتالى تأثير علي نمو النبات.

يمكن للكائنات الحية الدقيقة أن تعمل علي إذابة الزنك بعدة طرق:

١- تعمل الأحماض العضوية علي إذابـة هذا الكـاتيون في مركبات سيلكات الزنك ، فمثلا تنتج مركبات الزنك الذائبة عندما ينخفض pH الوسط نتيجـة تكوين الأحماض العضوية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة وذلك عند تلقيح عينـة من التربـة فـي منبت غذائى يحتوى علـي سليكات الزنـك Zn2SiO4 ، ويلـي ذلـك انخفـاض فـي مستوي الزنك الذائب وربما يكون ذلك بسبب انخفاض الحموضة في المحلول نتيجة استهلاك الميكروبات للأحماض العضوية.

٢-انخفـاض pH الوسط الناشـئ عن أكسـدة أمـلاح النشـادر بواسطة بكتريـا التـأزت سـوف يـؤدي إلــي تكـوين الصـورة الميسـرة مـن الزنـك، وزيـادة الحموضـة تناسـب امتصاص النباتات لعنصر الزنك بينما تعمل القلوية علي الإقلال من الامتصاص.

٣- يؤدي تحلل بقايا النباتات إلي إطلاق الكاتيون الذائب لهذا العنصر وربما يكون ذلك مرتبطا بإنتاج الأحماض العضوية.

٤-أكســـدة الكبريتيـــد فـــي مركـــب كبريتيـــد الزنـــك بواســـطة بكتريـــا Acidithiobacillus spp سوف يؤدي إلـي إنتـاج الصورة الذائبـة من هذا المعدن فـي

الماء، وفي حالة بقاء pH المحلول منخفضاً فإنه سيظل محتوياً علي كميات كبيرة من هذا العنصر.

أحد الشواهد الدالة علي تأثير الكائنات الحية الدقيقة على تيسير عنصر الزنك قد تم التوصل إليها من الدراسات التي أجريت علي ظاهرة صغر الأوراق Little leaf في عديد من أشجار الفاكهة وهو وضع غير طبيعي ينشأ عن نقص الزنك، فعند أخذ عينات التربة من الأراضي التي تنمو بها أشجار تظهر عليها أعراض صغر الأوراق تم تعقيمها بالمعمل وزراعتها بأحد نباتات الاختبار المناسبة لا تظهر أعراض المرض علي هذه النباتات، وإذا ما لقحت التربة المعقمة بكمية قليلة من التربة الأصلية المصابة أو ببعض أنواع من البكتريا فإن هذا يؤدي إلي إعادة ظهور أعراض نقص الزنك مرة أخرى، ويمكن العمل علي تلافي حدوث هذا النقص عن طريق الإمداد بكبريتات الزنك، ولذلك فإنه في بعض الظروف المعينة يحتمل أن يكون للكائنات الحية الدقيقة تأثير مباشر أو غير مباشر علي مدى تيسير هذا العنصر لنباتات المحاصيل.

عنصر النحــاس

يمكن أن تؤدي عمليات التمثيل الغذائي للكائنات الحية الدقيقة إلي التأثير علي مستوي النحاس في التربة، فمثلا يتناقص تركيز النحاس الذائب أثناء تحلل أنواع معينة من مخلفات المحاصيل، ويكون التأثير هنا غير مباشر وربما يكون ناتجا عن التفاعلات الكيمائية بواسطة مركبات تنتج خلال تحلل الأجزاء الخضرية للنباتات، يوجد النحاس في عدد من خامات الكبريتيد وتعرض هذه المواد الموجودة تحت سطح الأرض إلي الأكسجين يمهد لظهور كميات كبيرة من النحاس الذائب في ظروف الحموضة الناتجة عن ذلك، يوجد وجهتا نظر عن كيفية انفراد النحاس في مثل هذه الحالات وجهة النظر الأولى تعتبر أن أكسدة الكبريتيد أو أيونات الحديديك التي تتفاعل بعد ذلك مع بعض المواد مثل الكالكوبيريت ($CuFeS_2$) وبذلك يتم إذابة النحاس بوسائل غير إنزيمية، أما وجهة النظر الثانية فهي عن كيفية انفراد النحاس من كبريتيد العنصر فهي تفترض أن ميكروب ***Acidithiobacillus***

ferrooxidans يمكنه القيام بعملية أكسدة إنزيمية يتحول عن طريقها النحاسوز إلي ايونات النحاسيك وهي طريقة كان من المعتقد أن ينتج عنها طاقة لنمو هذا الميكروب الذاتي عند إمداده بكبريتيد النحاس CuS ، يمكن أيضاً أن يترسب النحاس الذائب وبذلك يصبح اقل قدرة علي الانتقال وذلك بتأثير الكائنات الحية الدقيقة المنتجة لكبريتيد الأيدروجين ويحدث هذا عند نقص الأكسجين في الأراضي المحتوية علي الكبريتات.

قد تعمل الميكروبات علي إحداث تغييرات لعدد من المعادن الأخرى وذلك فيما يتعلق بالتركيب الكيميائى وتحرك العنصر وحالة الأكسدة أو الإذابة، وأحياناً ما يستدل علي حدوث مثل هذه التفاعلات من الملاحظات الحقلية أو من اختبارات التربة أو الصخور المتعرضة لعمليات التجوية، ولكن غالباً ما يتم الحصول علي هذه البيانات من الدراسات التي تجري علي المزارع الميكروبية النقية.

كذلك يتسبب إنتاج حمض الكبريتيك وحمض النيتريك حيويا من أملاح الكبريت والنشادر في إذابة الكالسيوم والألمونيوم، وهو تأثير دائما ما يلاحظ حدوث في الظروف الطبيعية، وبالمثل فإن الأحماض العضوية المتكونة بفعل الكائنات غير ذاتية التغذية سواء في المزارع الميكروبية أو تحت الظروف الطبيعية أيضا سوف تعمل علي إذابة السيلكون والألمونيوم والماغنسيوم والكالسيوم وهي عملية قد تدخل بصورة ضمنية في عملية التجوية الحيوية للصخور والمعادن خلال مراحل تكوين التربة، تقوم البكتريا والفطريات أيضاً بتخليق مركبات مخلبية ومن المعروف أن هذه المركبات تعمل علي انفراد السليكون والكالسيوم والماغنسيوم والألمونيوم والصوديوم وعدد أخر من العناصر وذلك من المعادن أو الأملاح غير الذائبة.

من المفترض أن المركبات المخلبية من أصل ميكروبى تلعب دورًا لا يقتصر فقط علي إذابة معادن السليكات ولكن أيضاً في تجوية الصخور وفي انتقال الألومونيوم والحديد إلي أسفل في القطاع الأرضى، ويوجد كثير من المعادن في صورة أنيونات ، وقد أوضحت الدراسات التي أجريت علي أنواع من الكائنات غير ذاتية التغذية أنه يمكن أن يحدث اختزال للصور المؤكسدة من هذه العناصر. وقد تم

مناقشة ذلك بالنسبة لبعض العناصر أما البعض الأخر منها مثل الفاناديوم علي حالة فاناديت أو الموليبدنم في صورة موليبدات فتتعرض هي الأخرى إلي نفس النوع من التغيرات، بالإضافة إلي ذلك فإن تحلل المواد النباتية يعمل علي إذابة أكاسيد الكوبالت والنيكل والرصاص في المحاليل وذلك بوسائل غير معروفة وقد يكون ميكروب *Acidithiobacillus* الذي يعمل علي الكبريتيدات أو علي خامات الحديد مسئولا بصورة مباشرة أو غير مباشرة عن انفراد عدد كبير من العناصر في صورة ذائبة ، وتشير الاختبارات المعملية إلي احتمال حدوث كثير من مثل هذه التفاعلات، وقد تم التأكد الأن حدوث التفاعلات المؤدية إلي إدخال مجموعات الميثايل وذلك بالنسبة للكبريت والسيلينيوم والتيليريوم والزئبق ومن المحتمل أن يحدث ذلك أيضا بالنسبة للعناصر الأخرى عند تمثيلها بواسطة الكائنات الحية الدقيقة ، ويبدو أن الرصاص هو أحد العناصر الملائمة لإدخال مجموعات الميثايل عليها في الأوساط البيئية الطبيعية، مما سبق يتضح الدور الهام لميكروبات التربة في التحولات الكيموحيوية لكل العناصر الغذائية اللازمة للنباتات سواء الكبرى أو الصغري وحتى العناصر الغذائية التى يحتاجها النبات ولو بكميات ضئيلة جداً.

(الباب الخامس – الفصل الأول)

ميكروبيولوجيا المنطقة المحيطة بالجذور "الريزوسفير"

يرتبط المجموع الجذري للنباتات الراقية فقط بالوسط غير الحي المحيط به والذي يتكون من مواد عضوية ومعدنية بل يرتبط أيضاً بما يحيط به من تجمع الكائنات الحية الدقيقة الكثيف والنشط في عمليات التمثيل الغذائى، وتتميز الكائنات الحية الدقيقة التي تستجيب لوجود جذور النباتات بالاختلاف في خواصها عن غيرها من كائنات التربة البعيدة، مما يشير إلي أن النبات يهيئ وسطا فريدا من نوعه للميكروبات، والنبات بدوره يتأثر بدرجة واضحة بواسطة مجموعة الميكروبات التي يشجعها علي النمو إذا ما وضع في الاعتبار أن المنطقة المحيطة بالجذر هي المصدر الذي تحصل منه النباتات علي احتياجاتها الغذائية والتي من خلالها تجد الطفيليات طريقها للإصابة، وعليه فإن للعلاقات الموجودة بين الكائنات الحية الدقيقة والنباتات الراقية تأثيرا واضحاً علي خصوبة التربة والإنتاج الزراعي ، ويطلق علي الوسط البيئي الذي يقع تحت تأثير جذور النباتات بمنطقة الريزوسفير Rhizosphere .

وعموماً تقسم منطقة الريزوسفير إلي منطقة داخلية ملاصقة لأسطح جذور النباتات وأخرى خارجية تشتمل علي التربة المجاورة تماماً، وفي بعض الأحيان يطلق علي المنطقة الداخلية للريزوسفير بالمسطح الجذرى أو الريزوبلانRhizoplane . وتزداد أعداد الميكروبات علي وجه الخصوص في منطقة الريزوبلان حيث تتضح جليا العلاقات الناشئة بين الكائنات الحية الدقيقة والجذور، فتقوم جذور النباتات بإفراز بعض نواتج تمثيلها الغذائى بالإضافة إلي أنسجتها المتحللة في حين نجد أن الميكروبات غالباً لا تظهر لها أى تأثيرات ضارة بل تتسبب في بعض التأثيرات المفيدة لجذور النباتات.

الكائنات الحية الدقيقة بمنطقة الريزوسفير

Microorganisms in rhizosphere

يعتبر الريزوسفير من الأوساط البيئية المناسبة بدرجة كبيرة للتكاثر والتمثيل الغذائى لكثير من أنواع الميكروبات، ولقد درس هذا المجتمع دراسة مستفيضة باستخدام الطرق الميكروسكوبية والمزرعية والكيميائية والحيوية، فالخواص الميكروسكوبية لها فائدة كبيرة حيث أنها تبين أشكال الميكروبات الموجودة وعلاقتها بسطح النسيج الخارجي وتعتمد الدراسات المزرعية علي نزع جذور النباتات بحرص شديد من الحقل أو من أصص الصوب الزجاجية ثم تهز برفق للتخلص من التربة الزائدة العالقة بها، ثم توضع الجذور بما تحمله من تربة ملاصقة في زجاجات العينة المحتوية علي كميات معلومة من محلول مخفف معقم، وبعد عمل سلسلة التخفيفات المطلوبة تحضر أطباق العد بالطرق المعتادة، وتتعدد الطرق الكيميائية الحيوية المستخدمة في أبحاث الريزوسفير حيث يتخصص كل واحد منها في قياس أحد التغيرات التي تقوم بها الجذور أو الميكروبات.

أظهرت الدراسات الميكروسكوبية وجود مجموعة كبيرة من الميكروبات تحيط بالجذور وتوجد علي أسطح أنسجتها الخارجية وشعيراتها الجذرية، وتنتشر الخلايا البكتيرية علي وجه الخصوص علي صورة سلاسل أو تجمعات في حين توجد الفطريات والأكتينوميسيتات بدرجة أقل.

ويظهر العد بطريقة الأطباق نفس التأثيرات التي أوضحتها الدراسات الميكروسكوبية، بالإضافة إلي أنها تبين الزيادة المنتقاه في أعداد مجموعات معينة من البكتريا، وتقدير تأثير جذور النباتات بطريقة الأطباق يطلق عليه عادة تأثير الريزوسفير ويمكن توضيح التأثير المنشط للجذور علي أسس كمية باستخدام نسبة Rhizosphere: Soil ratio، R : S ratio والتي تمثل نسبة الأعداد في وحدة الوزن الموجودة في تربة الريزوسفير R إلي الأعداد الموجودة في وحدة الوزن في التربة البعيدة عن تأثير الجذور S ، ولقد ثبت أن البكتريا بخلاف بقية

الكائنات الحية الدقيقة تتأثر بدرجة واضحة في منطقة الريزوسفير حيث تتضاعف أعدادها بدرجة واضحة في التربة الملاصقة للجذور بينما نجد أن الزيادة في أعداد الكائنات الخيطية سواء كانت فطريات أو أكتينوميسيتات غالبا ما تكون ضئيلة.

ويجب أن نشير إلي أن مقياس R:S ratio يسمي تأثير الريزوسفير Rhizosphere effect وهذا المقياس يعبر عن تأثير إفرازات الجذور علي الميكروبات، فإذا كانت نسبة R:S ratio لمجموعة ميكروبية معينة أكبر من واحد معني ذلك أن للجذور تأثير مشجع لهذه المجموعة الميكروبية والعكس إذا كانت نسبة R:S ratio أقل من واحد معني ذلك أن للجذور تأثير مثبط وكلما زادت نسبة R:S ratio فإن هذا يعني أن التأثير المشجع للريزوسفير عالى.

ولمعرفة تأثير أى معاملة علي ميكروبات الريزوسفير يستخدم المعادلة التالية (إسحق وأخرون ، ١٩٨٤).

$$R: S\ efficiency = \frac{Rt - Rc}{St - Sc}$$

حيث أن:

Rt : عبارة عن عدد ميكروبات الريزوسفير المعامل

Rc: عبارة عن عدد ميكروبات الريزوسفير غير المعامل.

St: عبارة عن عدد ميكروبات التربة البعيدة عن الجذور المعاملة.

Sc: عبارة عن عدد ميكروبات التربة البعيدة غير المعاملة.

وعموماً فقد أوضحت الدراسات أن التأثير المشجع للريزوسفير علي النباتات يظهر في الفترات الأولى من نمو النبات ويرجع ذلك لإفرازات الجذور وليس للأنسجة التالفة من الجذور وعندما يصل النبات إلي طور النضج فإن أعداد الميكروبات تبدأ في التناقص حتى تصل الميكروبات إلي مستواها العادي في التربة.

كذلك وجد أن الأنواع الميكروبية المعزولة من الريزوسفير تكون أكثر نشاطاً عن مثيلاتها التى توجد بعيداً عن الجذور وكذلك تكون هذه الميكروبات أكثر كفاءة تمثيلية، حيث يرجع ذلك إلي أن حالة التزاحم الميكروبى حول الجذور تجعل الظروف البيئية غير مناسبة للميكروبات الضعيفة البطيئة النمو وبذلك يحدث انتقاء الميكروبات الأكثر كفاءة ويكون لها السيادة في منطقة الريزوسفير.

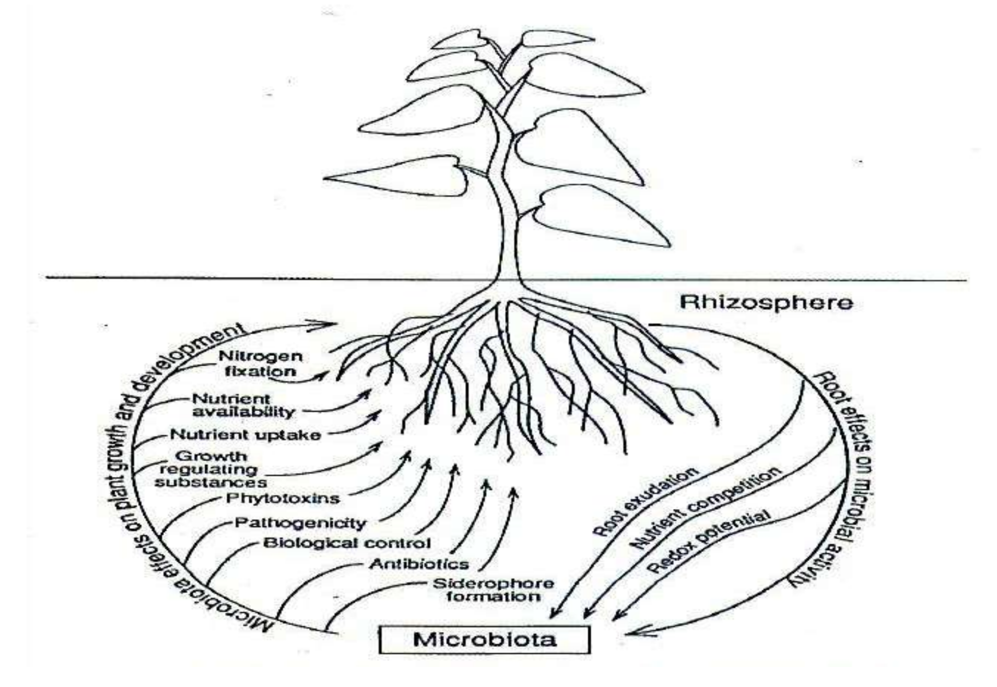
تأثير إفرازات الجذور علي الأنواع الميكروبية بالريزوسفير

تتبع أنواع البكتريا التي تستجيب بدرجة واضحة لتأثير الجذور مجموعات فسيولوجية وتقسيمية ومورفولوجية مختلفة، وأكثر هذه الأنواع استجابة هي العصويات القصيرة السالبة لصبغة جرام والتي غالباً ما تمثل نسبة أكبر من الميكروبات الموجودة في الريزوسفير عنه في حالة التربة العادية، بينما يلاحظ انخفاض أعداد كل من العصويات الطويلة الموجبة لصبغة جرام والبكتريا الكروية والبكتريا المتجرثمة ***Bacillus*** **spp**، ويبدو أن العصويتين المتغيرة في تفاعلها مع صبغة جرام ومجموعة ***Arthrobacter*** والبكتريا الكروية والعصويات الطويلة لا تظهر أى استجابة. وتتميز أجناس ***Alcaligenes, Flavobacterium, Agrobacterium*** وأحياناً ***Pseudomonas*** بانتشارها علي وجه الخصوص في منطقة الريزوسفير حيث تستجيب بدرجة واضحة للتأثير المتميز للجذور عليها، ومن البكتريا الأخرى التي تتواجد في منطقة الريزوسفير الأنواع التي تتبع أجناس ***Corynebacterium, Brevibacterium, Arthrobacter, Serratia, Xanthomonas, Microccoccus, Mycobacterium and Bacillus***، تتأثر البكتريا اللاهوائية بواسطة الجذور نتيجة لانخفاض ضغط الأكسجين الناتج عن تنفس كل من الجذور والميكروبات.

توجد البكتريا بكثافة عددية في الريزوسفير حيث تصل أعدادها بطريقة الأطباق إلي 10^9 لكل جرام تربة ريزوسفير في حين تتضاعف هذه التقديرات عشرات المرات عند استخدام طريقة الميكروسكوب المباشر، وأكثر من ذلك وجد أن البكتريا

تشغل ٤-١٠ ٪ من مساحة الجذور، هذا بالإضافة إلي أن البكتريا تظهر بوفرة في مواقع معينة من الجذور بدلا من توزيعها عشوائياً علي أسطح الجذور، وفي بعض النباتات مثل القمح نجد أنها نادراً ما توجد عند أطراف الجذور ولكن تنتشر بوضوح علي الشعيرات الجذرية للجذور الحديثة.

نظراً لكثافة الميكروبات في منطقة الريزوسفير لابد وأن التنافس بينها يصل إلي أقصاه. ففي ظل الظروف القاسية الناشئة من وجود مثل هذا المجتمع الكثيف من الميكروبات نجد أن الكائنات السريعة النمو تتفوق في أعدادها حيث تمكنها سرعة نموها من التنافس بكفاءة، وبالفعل يلاحظ دائماً أن السلالات الممثلة للبكتريا الموجودة في ريزوسفير العديد من النباتات تنمو بمعدلات أسرع من البكتريا الموجودة في الأراضي غير المنزرعة، وفي نفس الوقت فإن الميكروبات الأكثر كفاءة في التحولات الكيميائية الحيوية تنشط علي حساب السلالات الأقل كفاءة، مما يشير إلي أن ميكروبات الريزوسفير تتميز بمقدرتها الكبيرة وتأثيرها علي سرعة التغيرات الكيميائية الحيوية من الكائنات الموجودة في الأراضي غير المنزرعة.



شكل ٥(١)١:التفاعلات المختلفة بين ميكروبات الريزوسفير والنبات

ولا شك أن الزيادة المتميزة في أعداد البكتريا التي تحتاج في نموها للأحماض الأمينية في منطقة الريزوسفير يرتبط بالزيادة الواضحة في كمية الأحماض الأمينية الموجودة في هذا الوسط وذلك نتيجة للإفرازات النباتية وتحلل المواد العضوية النيتروجينية المكونة لأنسجة الجذور المتحللة والخلايا الميتة أو كنتيجة لإفراز الكائنات الحية الدقيقة.

وتستخدم تلك الأحماض الأمينية المفرزة في توفير احتياجات بعض الميكروبات النامية في الوسط وأكثر من ذلك فإن البكتريا التي لا تحتاج في نموها إلي أى من المواد المشجعة علي النمو قد تنتج الأحماض الأمينية مما يؤدي إلي الاعتقاد بأن نشاط ميكروبات الريزوسفير يعزى لفعل كل من الكائنات الحية الدقيقة والنباتات الراقية كذلك.

وعلي العكس من التأثير المنشط للبكتريا نجد أن الجذور لا تتسبب في التغير الكمي لأعداد الفطريات بدرجة واضحة ولكن تعمل فقط علي التشجيع النوعي للفطريات بمعني تشجيع نمو بعض أجناس الفطريات علي حساب الأجناس الأخرى، هذا بالإضافة إلي أن الأجناس السائدة في منطقة الريزوسفير تختلف باختلاف نوع النبات وعمره والتربة المزروع بها، وخلافاً عما هو معروف بأن مجاميع الفطر النامية علي أطباق بترى تنشأ النسبة الكبرى منها من نمو الكونيديات نجد أن نسبة كبيرة من وحدات الفطر الموجودة في الريزوسفير تكون علي حالة خضرية، فعلى الرغم من عدم زيادة الفطريات في أعدادها بدرجة ملحوظة في الريزوسفير إلا أن الكتلة الحية للميسليوم قد تكون كثيفة وتشغل ٣٪ من سطح الجذر.

ترتبط الجراثيم الهدبية لعديد من الفطريات الممرضة مثل ***Pythium, Aphanomyces Phytophthora,*** وغيرها ارتباطاً شديدا بجذور النباتات ، حيث وجد أنها تستجيب لبعض المركبات الكيميائية التي تفرزها مناطق الجذر المجروحة وكذلك التي تلى الأطراف.

تتأثر ميكروبات الريزوسفير بعديد من العوامل البيئية فعلى وجه الخصوص تظهر أهمية قرب عينة التربة من الجذور، حيث وجد أن أعداد البكتريا ودرجة نشاطها والذي يقاس بكمية CO_2 المتصاعد تزداد كلما ازداد اقتراب العينات من أسطح الجذر. ويعتبر العمق من العوامل البيئية الأخرى الهامة بالنسبة للأراضى غير المنزرعة فتتناقص أعداد البكتريا والفطر والطحالب ومعظم المجموعات الفسيولوجية الهامة من البكتريا بدرجة واضحة بزيادة العمق.

قد تختلف الميكروبات المنتشرة في الريزوسفير باختلاف أنواع النباتات المنزرعة، ويعزى مثل هذه الاختلافات إلي طبيعة الجذور وتركيب أنسجتها والإفرازات المنتجة لها، وكقاعدة عامة تتميز البقوليات خاصة البرسيم الحجازى والبرسيم المصرى بتأثيرها الواضح علي ميكروبات الريزوسفير عن النجيليات ومحاصيل الحبوب، كما يظهر التأثير الواضح للنباتات المعمرة التي تطول فترة نموها عنها في حالة النباتات الحولية وفي نفس الوقت قد يؤثر كل نوع من الأنواع النباتية علي حده تأثيرا واضحا علي واحد أو أكثر من الأجناس البكتيرية مثل ***Pseudomonas*** أو ***Agrobacterium***.

وتختلف ميكروبات الريزوسفير باختلاف عمر النبات ويتحكم طور النضج في مدي تاثير الجذور ودرجة استجابة الأنواع المختلفة من الميكروبات لذلك. ويلاحظ تأثير الجذور علي ميكروبات الريزسفير ابتداء من البادرات الحديثة العمر جداً مما يشير إلي أن الميكروبات تستجيب لإفرازات الجذور أكثر مما تستجيب للأنسجة النباتية الميتة أو المتحللة، ومع ذلك فبتقدم عمر النبات قد تساهم مثل هذه الأنسجة الميتة والمتحللة في تدعيم نمو مجتمع الميكروبات، ومن ناحية أخرى نجد أنه بالقرب من نهاية موسم النمو تموت الجذور وتتحلل وتستهلك الكربوهيدرات بسرعة مما ينتج عنه انخفاض الكثافة العددية للميكروبات، وبمرور الوقت نجد أن أعداد ميكروبات الريزوسفير تأخذ في النقصان تدريجياً إلي أن تصل في أعدادها لدرجة مماثلة للموجود في التربة العادية المجاورة، يبقى بعد التحولات الكيميائية الحيوية

مساهمة ميكروبات الريزوبيوم *Rhizobium* في نيتروجين التربة والذي ينعكس بدرجة واضحة علي المحاصيل التالية للبقوليات.

علي العكس من استجابة الكائنات الحية الدقيقة في الأراضى غير المنزرعة وفي المناطق البعيدة عن تأثير الجذور لإضافات المادة العضوية والأسمدة الكيميائية لا يظهر أى تأثير كمى أو نوعي ظاهر علي الميكروبات الموجودة في منطقة جذور النباتات كنتيجة لمثل هذه الإضافات ، وعموما فإن تأثير الزراعة القائمة علي ميكروبات الريزوسفير يعد أكثر أهمية من مستوي خصوبة التربة، حيث يلاحظ الاختلافات الكبيرة في أعداد الميكروبات وأنواعها الموجودة في منطقة جذور النباتات المختلفة المنزرعة في نفس الحقل بينما يتغير تركيب مجتمع الميكروبات الموجودة في منطقة ريزوسفير نبات ما تغيراً طفيفاً عند زراعته في حقول تختلف لدرجة كبيرة في خصوبتها.

ونظراً لأهمية الدور الذي تلعبه النباتات فإن إفرازات الجذور والتركيب الكيميائى لأنسجة الجذور قد تعمل لدرجة كبيرة علي تحديد مجتمع الميكروبات في منطقة الريزوسفير، فتواجد خلايا الميكروبات الحية بكثافة عددية هائلة علي مقربة من الجذور يشير إلي إفراز النبات وتخلصه من مواد عضوية تختلف باختلاف نوع النبات نفسه. ولقد تم التعرف علي بعض الإفرازات النباتية المختلفة ولو أن العديد منها لم يعرف بعد، ويوضح الجدول التالى أنواع المركبات الكيميائية التي تم التعرف عليها في منطقة جذور النباتات المختلفة والتي تعتبر في حد ذاتها إفرازات حقيقية للجذور وليست نتيجة لتخلص الجذر من بعض الأنسجة النباتية أو تحللها وذلك نظراً لعزل مثل هذه المركبات من الأطوار المبكرة للنباتات النامية تحت ظروف معقمة، ويتحكم في نوعية وكمية الإفرازات الناتجة توافر المواد الغذائية المعدنية والحرارة والكثافة الضوئية و O_2 و CO_2 وإصابة الجذور وعمر النبات، وتعد معظم هذه المركبات من أنسب المواد الغذائية حيث تتمكن مجموعة كبيرة من الميكروبات غير الذاتية التغذية من استخدامها بسهولة عند توفرها في البيئات المعملية.

تأثير إفرازات الجذور علي ميكروبات الريزوسفير

تؤثر النباتات النامية علي الميكروبات بعدة طرق، وقد يكون استجابة الميكروبات وتأثيرها في خصوبة التربة أسرع منه في منطقة الريزوسفير عنه في خارجها ، ولا شك أن أكثر ما تساهم به النباتات لميكروبات الريزوسفير هو إمدادها بالإفرازات المختلفة والأنسجة المتحللة التي تستخدم كمصادر للطاقة والكربون والنيتروجين والعوامل المشجعة لنمو هذه الميكروبات، ولقد أثبتت الدراسات الحديثة المستخدمة لثاني أكسيد الكربون النظير $^{14}CO_2$ مدى السرعة التي يتم بواسطتها نقل الكربون الممثل من الجو بواسطة البادرات إلي منطقة الجذور حيث يصبح جاهزًا لاستخدام الميكروبات ، حيث أمكن التعرف علي الكربون ^{14}C في إفرازات الجذور بعد فترة قصيرة لا تتعدي ٣-٤ ساعات، وتتأثر أيضا الميكروبات بعملية تنفس الجذور حيث يؤدي CO_2 الناتج إلي تغير رقم الأس الأيدروجيني أو مدي توفر بعض المواد المعدنية البسيطة، وقد يكون رقم الأس الأيدروجيني في منطقة الريزوسفير أقل منه في التربة المحيطة عند تمثيل الجذور للأمونيا، بينما ترتفع بدرجة واضحة في حالة استخدام النترات ويؤدي انتشار الجذور إلي تحسين تركيب التربة الذي يؤدي بدوره إلي تشجيع عمليات الأكسدة الميكروبية.

يستهلك الأكسجين وينتج ثاني أكسيد الكربون أثناء عمليات التنفس التي تتم بواسطة الجذور، كما يقوم الجزء الأكبر من مجتمع الميكروبات أثناء استهلاكه للمواد العضوية باستهلاك O_2 وإنتاج CO_2 لهذا فعند تنفس كل من الكائنات الحية الدقيقة منها والراقية يؤدي إلي استنفاذ O_2 وتراكم CO_2 في منطقة الريزوسفير بمعدلات كبيرة عنه في المناطق البعيدة تماماً عن تأثير الجذور.

ومما لا شك فيه أن CO_2 الذي تنتجه ميكروبات الريزوسفير بكميات كبيرة يؤثر علي تغذية النبات، حيث يساعد تكون حمض الكربونيك علي ذوبان بعض العناصر المعدنية غير الذائبة والتي ليست في متناول النبات خاصة مركبات الفوسفور والبوتاسيوم والماغنسيوم والكالسيوم.

ومن المواد التي وجدت في منطقة ريزوسفير نباتات نامية تحت شروط التعقيم ما يلي:

المجموعة	الأنواع المفرزة
الأحماض الأمينية	تقريبا كل الأحماض الأمينية
الأحماض العضوية	الخليك – البيوتريك- الستريك- الفيوماريك –الجلايكوليك- اللاكتيك- الماليك- الأكساليك- البروبيونيك- السكسنيك- الفاليريك- الطرطريك.
الكربوهيدرات	أرابينوز- ديزوكسي رايبوز- فراكتوز- جلاكتوز –جلوكوز- مالتوز – مانوز- رافينوز- ريبوز- سكروز-زيلوز، بعض السكريات العديدة.
الأحماض النووية ومشتقاتها	قواعد الأدينين- الجوانين- السيتوزين- اليوراسيل-الثايمين.
عوامل النمو	بارا امينوبنزوات- البيوتين – الكولين-الإينوسيتول- حمض النيكوتينيك- البيرودوكسن – الثيامين .
الإنزيمات	الأميليز- الإنفرتيز- الفوسفاتيز – البروتينيز.
مركبات أخري	أكسينات- جلوتامين- جلوكوسيدات- حمض هيدروسيانيك- باراهيدروكسي بنزوات- الببتيدات- صابونين – أسكوبولتين.

وتعتبر بكتريا النشدرة من أهم مجاميع البكتريا الفسيولوجية التي تستجيب بدرجة واضحة لوجود جذور النباتات الحية، حيث لوحظ الارتفاع الشديد ratio R:S الخاصة بهذه الميكروبات والتي تصل إلي عديد من المئات : واحد، وبدرجة مماثلة نجد أن الكثير من الميكروبات النامية في منطقة الريزوبلان تتميز بمقدرتها الكبيرة علي مهاجمة البروتينات، كما وجد أن درجة نشاط إنزيم البروتييز للجذور ذات الكثافة العالية بالميكروبات قد تكون مرتفعة، وقد يعزي إلي حد ما نشاط مثل هذه الكائنات غير الذاتية التغذية إلي تواجد مواد عضوية نيتروجينية في منطقة الريزوسفير، ولكن يجب أن يوضع في الاعتبار أن ميكروبات النشدرة والمحللة للبروتينات غير متخصصة في نشاطها حيث لا تقتصر على مواد غذائية معينة وأن استجابتها قد تعزي إلي تأثير عوامل بيئية أخرى.

منذ زمن بعيد يوجه علماء الميكروبيولوجيا اهتمامهم الشديد لدراسة مدي إمكانية تشجيع عملية تثبيت النيتروجين الجوي بواسطة البكتريا التي تعيش علي حالة حرة في منطقة جذور النباتات غير البقولية، ولكن حديثاً وبعد استخدام طرق بسيطة وبالغة الحساسية لتقدير معدلات تثبيت النيتروجين الجوي أصبح من الممكن تقييم الآراء السابقة غير المدعمة بأسانيد قوية والتي تشير إلي زيادة المحتوي النيتروجيني كنتيجة لنشاط هذه المجموعة من الميكروبات، ولقد أظهرت العديد من الدراسات انتشار السلالات البكتيرية المحتوية علي إنزيم النيتروجينيز والتابعة لأجناس *Azospirillum, Beijerinckia, Azotobacter* في جذور محاصيل الحبوب وأعلاف المراعي وغيرها من المحاصيل غير البقولية، كما أوضحت الأبحاث أيضا قيام هذه الميكروبات بعملية تثبيت النيتروجين الجوي في مناطق جذور النباتات. ولكن علي الرغم من وجود معلومات غزيرة في هذا الخصوص إلا أنه لم يتضح حتى الأن سبب اقتصار بعض النباتات علي تشجيع هذه الأنواع من البكتريا في مناطق جذورها وما هي نوعية إفرازات الجذور التي تنشط هذه الميكروبات وتزيد من كفاءة تثبيتها للنيتروجين ومعدل الاستفادة الحقيقية للمحصول القائم من نشاط هذه المجموعة من الميكروبات.

تنشط عملية انطلاق الأزوت عند توفر النترات في منطقة جذور النباتات حيث يزداد تصاعد كل من N_2 و N_2O بتقدم عمر النبات، وقد يعزي ذلك إلي استخدام الميكروبات المسئولة عن هذه العملية لإفرازات الجذور كمصادر للطاقة أو إلي انخفاض تركيزات الأكسجين نتيجة لنشاط عملية التنفس، ويصاحب ارتفاع معدل تراكم N_2 و N_2O زيادة واضحة في أعداد بكتريا انطلاق الأزوت في منطقة الريزوسفير.

لا تتأثر أعداد البكتريا ذاتية التغذية المؤكسدة للأمونيوم والنيتريت بوجودها علي مقربة من جذور الأنواع العديدة من المحاصيل الحقلية، وتستمر عمليات التأزت لأملاح الأمونيوم بمعدلات متماثلة في كل من العينات القريبة من الجذور والأخرى المأخوذة من أراض غير منزرعة، بل وتتميز بعض النباتات الطبيعية بانخفاض أعداد بكتريا التأزت بدرجة واضحة في منطقة جذورها.

ومن ناحية أخرى نجد أن البكتريا المحللة للسليولوز تنتشر بدرجة واضحة في منطقة الريزوسفير وتقل أعدادها تدريجياً في العينات المأخوذة علي مسافات بعيدة عن جذور النباتات ، وتعد أكثر الميكروبات المحللة للسليولوز انتشارا في الريزوسفير السيتوفاجا، وتعزى الزيادة في أعداد هذه المجموعة من الميكروبات إلي توفر كميات كبيرة من أنسجة الجذور السليولوزية من مواد عضوية مختلفة بواسطة ميكروبات الريزوسفير الأخرى.

تشجع إفرازات الجذور بدرجة واضحة إنبات الأطوار الساكنة لعديد من الفطريات، وعلي هذا فإن الجراثيم الكلاميدية لفطر *Fusarium* وكونيديات فطر *Verticillium* والأجسام الحجرية لفطر *Sclerotium* والجراثيم الهدبية لفطر *Pythium* يمكنها الإنبات عند وجودها بالقرب من الجذور أو في وجود إفرازات الجذور بعد عزلها أو عند توفر أحد المركبات الموجودة في إفرازات الجذور، كما تدعم مركبات الريزوسفير نمو هيفات الفطر بدرجة تؤهلها من تغلغل الجذور القريبة وذلك قبل أن تتعرض الخيوط للتحلل في التربة ذاتها، وكقاعدة عامة نجد أن الإنبات وما يتبع من نمو هيفات الفطر يشجعه إفرازات نباتات مختلفة منها ما لا يعتبر عائلا

لهذا الفطر ومنها ما يعتبر عوائل حساسة وأخرى مقاومة، ولكن فطر ***Sclerotium cepivorum*** يعتبر حالة فريدة من نوعه حيث تبقى الأجسام الحجرية لهذا الفطر في التربة علي حالة ساكنة لعديد من السنين، ونادرا ما تنبت هذه الأجسام الحجرية في التربة أو علي مقربة من جذور نباتات مختلفة ولكنها تنبت بسهولة عند توفر نباتات عوائلها تابعة لجنس البصل أو عند إمدادها بإفرازات جذور مثل هذه النباتات.

وقد تفرز الجذور بعض المواد المضادة لنمو الميكروبات وفي بعض الأحيان تكون هذه المواد مثبطة لنمو الفطريات بل وأن المجموع الجذرى لأحد النباتات قد ينتج العديد من هذه التوكسينات حتى أن CO_2 الذي ينتج في منطقة الريزوسفير قد يثبط إنبات الفطريات أو يؤثر عليها، ونظرا لقلة النترات في أراضي الحشائش المعمرة فهناك نظرية تعلل ذلك بتثبيط بكتيريا التأزت ذاتية التغذية في مثل هذه الأراضى بواسطة أحد التوكسينات التي ينتجها المجموع الجذرى للنباتات.

تأثير الكائنات الحية الدقيقة الموجودة بالريزوسفير علي نمو النبات

قد تؤثر مثل هذه التغيرات التي تطرأ علي الميكروبات سواء من الناحية الكمية أو النوعية علي النباتات وذلك من خلال التفاعلات المختلفة التي تقوم بها في منطقة الجذور، حيث يساعد إنتاج CO_2 وتكون الأحماض العضوية والمعدنية المختلفة علي إذابة المواد الغذائية المعدنية اللازمة للنبات وتحتاج الميكروبات في نفس الوقت إلي مجموعة مختلفة من الكاتيونات والأنيونيات اللازمة لنموه، ولعل تمثيل مركبات النيتروجين والفوسفور يعد من الأمثلة البارزة في هذا المجال، تستنفذ الميكروبات الهوائية الأكسجين وتضيف CO_2 مما يحد من استطالة الجذور ويقلل من معدل امتصاصها للماء والمواد الغذائية، ومع هذا فقد تشجع ميكروبات الريزوسفير نمو النباتات وذلك عن طريق إنتاجها للمواد المنشطة للنمو والمساهمة في المحافظة علي بناء ثابت للتربة وإفرازها لبعض العناصر الغذائية في صورة معدنية أثناء تحليلها ومعدنتها للمواد العضوية المعقدة وأخيرا بدخولها مع الجذور في علاقات تكافلية، وتجدر الإشارة هنا إلي أن افتراض حدوث أحد العلاقات أو

الارتباطات المفيدة أو الضارة بين الميكروبات والنباتات يعد أكثر بساطة من تقديم النتائج الحقلية التي تؤيد ذلك، ولو أن هناك بعض الأدلة المتوفرة لحدوث العديد من الارتباطات المميزة بين الميكروبات والجذور.

تؤثر ميكروبات الريزوسفير علي تيسير مركبات الفوسفور وسهولة امتصاصها بواسطة جذور النباتات، وتتضح الأهمية الكبيرة لذلك إذا ما عرف أن المحاصيل المختلفة تظهر احتياجات عالية من الفوسفور، وتتمكن نسبة كبيرة من بكتريا الريزوسفير أو الريزوبلين من تكسير مركبات الفوسفور العضوية، وبالفعل وجد أن مثل هذه الكائنات غير ذاتية التغذية تتواجد بأعداد كبيرة في منطقة جذور النباتات. وعلي الرغم من سرعة معدنة مركبات الفوسفور إلا أن المحصلة النهائية لكمية الفوسفور المعدنى المنطلقة تتأثر بمعدلات حدوث كل من عمليات المعدنة والتمثيل، ونظرا لانتشار الميكروبات بأعداد كبيرة في منطقة الريزوسفير فإن معدل تمثيل مركبات الفوسفور قد يكون عالياً في هذا الوسط البيئي، وعموماً يمكن إجمال القول بأن تأثير ميكروبات الريزوسفير علي النباتات يمكن إيضاحها فيما يلي:

١- التأثيرات المفيدة لميكروبات الريزوسفير على النباتات

Beneficial effect of rhizosphere microflora on plants

أن منطقة الريزوسفير كما سبق أن أوضحنا تتميز بوجود أعداد كبيرة من الميكروبات ومن سلالات ذات نشاط حيوي أعلي مقارنة مع ميكروبات التربة البعيدة عن الجذور ، ولذلك فمن الواضح أن وجود أعداد كبيرة من الميكروبات التي تيسر للنباتات احتياجاتها الغذائية حول الجذور يمكن أن تلعب دوراً رئيساً في تغذية النبات، ولقد أوضحت كثير من الدراسات أن النباتات تنمو نموا جيداً وتكون أقدر على امتصاص كثير من العناصر المعدنية الضرورية لنموها في وجود الميكروبات عنه في غيابها، فلقد اتضح على سبيل المثال أن النباتات النامية في تربة معقمة في المعمل تعطي محصولً أقل وامتصاصاً أقل للفوسفور عن النباتات النامية في التربة غير المعقمة، كما اتضح من دراسات عديدة دور الميكروبات في إذابة مركبات

الفوسفور غير الذائبة في التربة وبالتالي تجهيزها في صورة ميسرة للنباتات، كما اتضح دور الميكوريزا Mycorrhizeae في امتصاص النبات للفوسفور والبوتاسيوم، كما أن ميكروبات الريزوسفير تزيد جهازية الحديد والمنجنيز للنبات، ويفسر البعض دور ميكروبات الريزوسفير في زيادة جهازية العناصر المعدنية على أساس المركبات العضوية التي تكونها أثناء عمليات التمثيل الغذائي ، وهذه المركبات تكون مركبات معقدة مع العناصر المعدنية أو تعمل عمل المركبات المخلبية Chelating compounds في تسهيل دخول هذه العناصر إلي النبات.

ولقد أوضحت كثير من الدراسات أيضاً أن كثيراً من ميكروبات الريزوسفير تكون مواد بيولوجية لها تأثيرات مشجعة لنمو النباتات، فقد لوحظ إفراز عديد من الميكروبات في الريزوسفير للأكسينات Auxins والجبريلليات Gibberellins والمواد الشبيهة بالسيتوكينينات ومثل هذه المركبات معروف دورها في تشجيع إنبات البذور وتكون الشعيرات الجذرية وزيادة نمو النباتات وقابليتها على امتصاص العناصر.

كما أوضحت الدراسات أن ميكروبات الريزوسفير لها تأثير مفيد على العلاقة التكافلية بين بكتريا العقد الجذرية وجذور النباتات البقولية ، فقد اتضح من بعض الدراسات أن بعض سلالات الريزوبيا Rhizobia لا تكون فعالة في الظروف المعقمة ولكنها تكون فعالة في وجود ميكروبات الريزوسفير العادية.

٢- التأثيرات الضارة لميكروبات الريزوسفير على النباتات

Harmful effects of rhizosphere microflora on plants

يمكن من ناحية أخرى أن نلاحظ أن وجود أعداد كبيرة من الميكروبات ذات نشاط تمثيلي عالي في المنطقة التي تمتص منها النباتات الغذاء ، قد يكون له في بعض الأحوال تأثيرات ضارة على نمو النباتات خصوصاً عندما تتنافس هذه الميكروبات مع النباتات على بعض العناصر الضرورية الموجودة بكمية محدودة في التربة أو الأكسجين أو قد تشجع الميكروبات المرضية.

ولقد أوضح البعض أن ميكروبات الريزوسفير تنافس النباتات في امتصاص النيتروجين من التربة ، حيث تأخذ هذه الميكروبات جزء من النيتروجين المعدني الجاهز وتستخدمه في بناء خلاياها Immobilization ، حيث لوحظ أن النقص في النيتروجين يرتبط إيجابيا بأعداد الميكروبات في الريزوسفير، ولقد لوحظت علاقات مشابهة مع عناصر غذائية أخرى حيث لوحظ أن وجود الميكروبات يقلل من المحتوى المعدني للمادة الجافة للنباتات مقارنة مع النباتات النامية في التربة المعقمة، وأن امتصاص الكالسيوم يكون أقل في حالة النباتات النامية في التربة غير المعقمة عن التربة المعقمة، كما لاحظ البعض وجود علاقة تنافسية واضحة بين ميكروبات الريزوسفير وجذور النباتات على الفوسفور الذائب، وعموماً فإن علاقات التنافس تكون أكثر وضوحاً عند وجود عنصر بكمية محدودة في نفس الوقت الذي تكون الظروف غير مناسبة مثل نقص التهوية، كما لوحظ من بعض الدراسات أن المواد الحيوية التي تكونها الميكروبات في منطقة الريزوسفير قد يكون لها تأثيرات ضارة علي نمو النباتات في بعض الأحوال، وقد لوحظ مثل هذه التأثيرات للتوكسينات Toxins والمضادات الحيوية Antibiotics .

علاقة ميكروبات الريزوسفير بأمراض النبات

Relationship between rhizosphere microflora and plant disease

إن ميكروبات الريزوسفير عادة ميكروبات غير مرضية ، ولكن العلاقات بين هذه الميكروبات سواء التشجيعية أو التنافسية في منطقة الريزوسفير قد يكون لها أهمية خاصة بالنسبة لميكروبات التربة الممرضة للنباتات، لأن هذه الميكروبات سوف تخترق منطقة الريزوسفير حتى تصل إلي النباتات وتبدأ الإصابة، والعلاقة الميكروبيولوجية في الريزوسفير قد تؤدي إلي استبعاد أو إحباط نمو الميكروب المرضي، أو في ظروف أخري قد تؤدي إلي تنشيطه.

ومن المعروف أن كثيراً من الميكروبات الممرضة للنباتات تقضي جزءا من حياتها في التربة، مما يعرضها للتأثيرات المضادة للميكروبات التي تعيش في التربة وخصوصاً ميكروبات الريزوسفير، وأن قدرة عديد من ميكروبات التربة على إحباط

نمو الميكروبات المرضية تم ملاحظته بسهولة تحت الظروف المعملية، ولكن تقدير مدى هذا التأثير تحت ظروف الحقل صعب.

ويعود التأثير المثبط لميكروبات التربة على نمو الميكروبات المرضية للنبات إلي واحد أو أكثر من العوامل التالية:

١- التأثير المباشر نتيجة التطفل.

٢- تكوين مضادات حيوية.

٣- إنتاج أحماض تجعل الوسط ذو درجة حموضة غير مناسبة لنمو الميكروبات المرضية.

٤- التنافس على العناصر الغذائية.

٥- تنشيط المناعة في النبات العائل.

وتعتبر مقارنة مدي قدرة الميكروب المرضي في التربة المعقمة وغير المعقمة من الطرق المتبعة بكثرة لتقدير أثر الميكروبات التي تعيش في التربة والريزوسفير على الميكروب المرضي، فمن الملاحظات التي تشاهد بكثرة أن فطريات التربة المرضية تكون أشد إضراراً بالنبات في التربة المعقمة عن غير المعقمة، ومن الملاحظات المباشرة على تأثير ميكروبات الريزوسفير على أمراض النبات تلك الدراسة التي أوضحت قدرة بعض أنواع جنس *Xanthomonas* علي إحباط فطر *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن الجذور Root rot ، حيث وجد أن بعض أنواع جنس *Xanthomonas* يكون مستعمرات كثيفة على هيفات الـ *Fusarium* وتؤدي إلي حدوث تجمع للميسيليوم وتلونه بلون وردي ثم أخيراً يموت الفطر، ولقد اتضح أن جنس *Xanthomonas* يشجع نموه جذور نباتات الذرة بينما لا يشجعه جذور الشعير، لذلك فقد لوحظ أن شدة مرض تعفن الجذور المتسبب عن الـ*Fusarium* تكون أقل في التربة التي كانت منزرعة سابقاً بالذرة من قبل زراعة النبات الحساس لتعفن الجذور، ومثال أخر حيث أوضحت الدراسات أن بعض الميكروبات الموجودة على سطح حبوب القمح يعطي النبات حماية ضد إصابتها بفطر *Helminthosporium* عند زراعتها، كما توجد بحوث تؤيد التأثير المثبط

لفطريات Endomycorrhiza على الكائنات الممرضة للجذور حيث أنه بغزو الميكوريزا للجذور تحدث به تغيرات فيسيولوجية تزيد مقاومته للكائنات الممرضة مثل فطر *Fusarium oxysporum* في جذور الطماطم ونيماتودا *Meloidogyne incognita* في جذور القطن.

ولقد أجريت دراسات مختلفة لمحاولة تفسير اختلاف أصناف النبات الواحد في قابليتها للإصابة بالأمراض على أساس ميكروبات الريزوسفير ، فبعض الباحثين يعزون هذا الاختلاف في القابلية للإصابة إلي الاختلاف في طبيعة إفرازات جذور هذه الأصناف مما يسبب اختلافاً واضحاً في ميكروبات الريزوسفير لهذه الأصناف، وهذا ينعكس على نشاط الميكروب المرضي، كما لاحظ البعض أن الأصناف المقاومة للإصابة بالذبول يحتوى الريزوسفير الخاص بها على أعداد أقل من الميكروبات المكونة للجراثيم والمعروف عنها أنها من أكثر أنواع البكتريا إنتاجاً للمضادات الحيوية، ولقد لوحظ أيضاً أن أصناف الكتان المقاومة للأمراض تفرز جذورها مادة linamarin ، والتي عند تحللها بواسطة ميكروبات الريزوسفير يتكون سيانيد الهيدروجين Hydrogen cyanide ، وهذا المركب يحبط نمو الميكروبات المرضية مثل فطريات *Fusarium, Helminthosporium* ، بينما لا يؤثر على الميكروبات المضادة للميكروبات المرضية مثل فطر *Trichoderma viride* الذي يفرز المضاد المسمي Gliotoxin .

(الباب الخامس- الفصل الثانى)

دور ميكروبات التربة في التخلص من مبيدات الأفات

منذ أن اكتشف تأثير المبيد الحشري الـ DDT عام ١٩٣٩ وما تبعه من معرفة تأثير الـ 2,4-D كمبيد للحشائش، فقد بدأ استخدام الكيماويات للوقاية من الأفات بهدف زيادة الغلة الزراعية، ومع انتشار استخدام هذه المركبات اكتشف أن لها بعض التأثيرات الضارة علي الإنسان والحيوان والنبات والكائنات الدقيقة والوسط البيئي.

شكل ٥(٢)١:التركيب البنائى لمبيد ال DDT

وبسبب تزايد استعمال المبيدات في الزراعة الحديثة بشكل كبير لمكافحة مختلف الأفات ، بدأ العلماء المشتغلين بميكروبيولوجيا الأراضى ينظرون بقلق إلي هذه المواد السامة خوفاً من أثارها الضارة علي أحياء التربة ، وما لهذا من انعكاس ضار علي العمليات الحيوية الهامة المرتبطة بخصوبة التربة ، لذلك فلقد بدأت الدراسات تتوسع في هذا الموضوع وتتوالى لمحاولة دراسة الموضوع من جميع نواحيه .

وأغلب المبيدات عبارة عن مركبات كيماوية عضوية تحتوى علي واحد أو أكثر من المركبات الحلقية أو يدخل في تركيبها ذرة أو أكثر من الهالوجينات ، وأحياناً الكبريت أو الفوسفور أو النيتروجين، ونظرا لأن الأفات التي تستخدم المبيدات لمقاومتها تقع تحت مجموعات تقسيمية مختلفة ومتعددة ، فإن المبيدات المستعملة في مقاومتها تختلف في تركيبها ، وعموماً فإنها تسمي حسب مجموعة الكائنات التي

تــؤثر عليهــا فهنــاك مبيــدات الحشــائش Herbicides والمبيــدات الحشــرية Insecticides والفطريـة Fungicides والنيماتوديـة Nematicides والبكتيريـة . Bactericides

والعلاقة التي تربط ما بين المبيدات وكائنات التربة الدقيقة ذات اتجاهين :

-الاتجاه الأول هو : أن الميكروبات قد تتأثر تأثرا ضارا بهذه المبيدات ، وهذا يؤثر علي العمليات الحيوية التي تحدث بالتربة.

-الاتجاه الثاني هو : أن الميكروبات قد تؤثر علي المبيدات وتحللها و يترتب علي هــذا التحلــل حــدوث معدنـــة Mineralization للمبيــدات أو فقــد لســميتها Detoxification أو تنشيط لها Activation .

والمبيـدات المستخدمة لمقاومـة الأفـات تتبـع أقسـاما عديـدة مـن المركبـات الكيميائية تختلف في طريقة تأثيرها علي الأفات ومدى أثرها علي الميكروبات ومدى قابليتها أو مقاومتها للتحلل البيولوجي وغير البيولوجي في التربـة ، ونظرا لأن أغلب المبيدات عبارة عن مركبات عضوية وعلـي هذا فإنـه إذا كـان المبيد صالحا كمصدر للغذاء لمجموعة من ميكروبات التربة فإن تحلله واختفاء أثره السام يكون سريع.

وتصل مبيدات الأفات إلـي التربـة بأكثر من طريق فمنها مـا يضاف مباشرة علـي سطح التربـة ، أو يحقـن فـي طبقاتهـا العليـا ، ومنهـا مـا يستعمل رشـا علـي المجموع الخضري ويصل إلـي التربـة ممـا يتساقط أثنـاء الرش أو مـع الأوراق التـي تتساقط أو النباتـات التـي تمـوت بالإضـافة إلـي أن ميـاه الـرى تتلـوث بتلـك المبيـدات وتنقلها إلي الحقول المجاورة .

وعلي العموم فإن طول مدة بقاء المبيد Persistence من الموضوعات الهامة التي لها قيمة تطبيقية كبيرة ، حيث وجد أن المبيدات تختلـف كثيرًا فـي معدل تحللها فبعضها سريـع التحلل وبعضها بطئ والبعض يقـع فـي مستوي وسط، وسرعة التحلل البيولوجي للمبيد قد تكون مرغوبة في ظروف معينة وغير مرغوبة في ظروف أخرى، فعلـي سبيل المثـال فإنـه إذا فرض أننـا استخدمنا مبيدا للحشائش وكـان هذا

المبيد شديد المقاومة للتحلل ، فإن وجوده في الأرض لمدة طويلة بدون تحلل سوف يكون له أثارا سيئة وبقاء المبيدات في الأرض لمدة طويلة بعد إضافتها يجعل من الممكن للنباتات والأعلاف الحيوانية التي تنمو في هذه الأرض أن تمتص كميات من هذه المبيدات وتتراكم داخلها مما قد يكون له أثار صحية غير محمودة علي من يتناول هذه النباتات وهذه النقطة قد أعطاها المشتغلون بتلوث البيئة أهمية كبيرة.

ولقد جاء في إحصائيات منظمة الصحة العالمية لعام ٢٠١٨ م ما يفيد بأن أكثر من نصف مليون شخص علي الأقل يصابون في العالم سنوياً بالتسمم بالمبيدات المستخدمة في مقاومة الأفات النباتية ويموت منهم عدة ألاف .

ويجب أيضاً أن لا يغيب عن الأذهان الآثار الخطيرة لتلوث البيئة ، سواء أكانت الترع أو المصارف أو الأرض أو الهواء بهذه المبيدات المقاومة للتحلل التي تبقى آثار التلوث بها لمدة طويلة ، وهناك أحوال يكون من المفيد فيها أن يكون المبيد مقاوما للتحلل لحد كبير ، مثل الظروف التي يراد فيها التخلص من النمو النباتي للحشائش لمدة طويلة في المناطق التي تقام فيها مشروعات تعيق هذه النباتات العمليات الإنشائية فيها ، وفي أحوال أخرى قد يكون من المرغوب أن يكون للمبيد مقاومة معقولة للتحلل في حالة مقاومة بعض الآفات والتي يراد فيها أن يبقى المبيد مدة في الأرض حيث يضمن التخلص من الأفة.

ولقد أصبح من المهم للمحافظة علي البيئة من التلوث دراسة الآثار الجانبية لاستخدام المبيدات ومدى مقاومتها للتحلل قبل دخول المبيد في التطبيق العملي الزراعي ، وذلك حتى يمكن تلافي الأثار السيئة بإجراء تحويرات في البناء الكيميائي للمبيد تجعله أكثر قابلية للتحلل الميكروبي ، ومثل هذه التحويرات ليست صعبة الإجراء ويمكن عملها بدون تقليل الأثر السيئ للمبيد علي الأفة التي أنتج من أجلها ، ولتوضيح تأثير التغييرات التي تحدث في جزئ المبيد علي قابليته للتحلل ، لوحظ مثلا أن مركبات Dichlorobenzoate مقاومة للتحلل الميكروبى في التربة أشد كثيرا من مركبات Monochlorobenzoate بالرغم من الاختلاف الطفيف في التركيب الجزيئى ، كما لوحظ أيضاً أن موضع المجاميع الاستبدالية علي المركب

الأصلي لها أثر كبير علي قابلية المركب للتحلل ، فعلي سبيل المثال فقد لوحظ في مبيدات الحشائش التابعة لمجموعة Phenoxy herbicides مثل 2,4-D التي فيها مجاميع استبدالية من الكلور أن وجود هذه المجاميع الاستبدالية في الوضع Orthoأو Para يجعل عمرها في التربة قصيرًا ، بينما إن وجدت المجموعة الاستبدالية في الوضع Meta فإنها تكون مقاومة للتحلل لمدة طويلة، وأسباب زيادة أو نقص مقاومة مركب كيماوى للتحلل نتيجة لوجود مجموعة استبدالية معينة أو موضعها علي الجزئ غير مؤكدة .

ونظرا لأن مجموعة المبيدات التابعة لقسم الهيدروكربونات الكلورونية Chlorinated hydrocarbons مثل D,D,T والجامكسان أبطأ في التحلل بالتربة من المبيدات التابعة لمجموعة المركبات الفوسفورية العضوية Organophosphorus compounds (Hydroperoxide decomposer) مثل السيترولين والدورسبان ، فقد قل استعمال المبيدات التابعة للمجموعة الأولى وزاد استعمال المبيدات التابعة للمجموعة الثانية السهلة التحلل في الأراضى والمياه.

وعموماً فقد يعزي أسباب مقاومة بعض المبيدات للتحلل البيولوجي بالنقاط التالية :

١-غياب الإنزيمات القادرة علي إحداث تغيرات في المجموعة الكيميائية التي يتبعها المبيد.

٢-قد تكون الإنزيمات القادرة علي تحليل هذه المجموعة الكيميائية موجودة ولكن وجود تحوير في تركيب جزئ المبيد يجعله غير قابل للنفاذ خلال جدر خلايا الميكروب الذي يوجد فيه الإنزيم.

٣-قد تكون الميكروبات القادرة علي تحليل المجموعة الكيميائية التي يتبعها المبيد موجودة فعلا ولكن وجود تحوير في جزئ المبيد يجعله غير قابل للتحليل الإنزيمي أو

٤-قد يكون المبيد المحور مثبطا للإنزيمات القادرة علي تحليل المجموعة الكيميائية التي يتبعها هذا المبيد.

وبصرف النظر عن اختلاف المبيدات في سرعة تحللها فإن سرعة تحلل المبيد الواحد تتأثر كثيرا بالظروف البيئية المحيطة كالاتي :

١. الظروف اللاهوائية تؤدي إلي إطالة عمر المبيد في التربة وقد يرجع ذلك إلي أن الإنزيمات التي تعمل علي هذه المركبات تحتاج إلي الأكسجين لعملها كما في حالة Hydrocarbon pesticides.
٢. عملية التحلل تختلف باختلاف قوام التربة وذلك لأن عملية ادمصاص المبيدات علي مواد التربة الغروية يقلل هذه المبيدات للتحلل الميكروبي وذلك لسببين:
٣. ادمصاص المبيد نفسه علي غرويات التربة يقلل من قدرة الميكروبات علي تحليله أو إزالة سميته .
٤. الإنزيمات المحللة للمبيد إن كانت إنزيمات خارجية فإن ادمصاصها علي غرويات التربة يقلل من فعاليتها .
٥. إن العوامل المؤثرة علي النشاط البيولوجي في التربة عموما ينعكس أثرها علي قدرة الميكروبات علي تحليل المبيدات.
٦. التحلل أسرع في الوسط المتعادل عن الوسط الحمضى.
٧. تركيب المجموعة الميكروبية للتربة عامل مؤثر أساسي علي سرعة التحلل .
٨. درجة الحرارة ودرجة الرطوبة عوامل لها تأثير كبير لما لها من أثار علي النشاط البيولوجي في التربة عموماً.
٩. ورغم أن تحلل المبيدات بواسطة الميكروبات هو الغالب في الأراضي ، إلا أن هذه المبيدات قد تختفي من التربة بطرق غير بيولوجية مثل الفقد بالتطاير أو بالغسيل مع ماء الصرف أو بالتحلل كيميائياً الذي غالباً ما يكون بالتحلل المائى وفيه تنتج مواد غير سامة.

ويلاحظ أن التحلل غير البيولوجي لا يؤدي إلي التكسير الكامل للمبيد أو معدنته وذلك كما يحدث في حالة التحلل البيولوجي ، وعلي ذلك فإن نواتج التحلل غير البيولوجية تتراكم بالتربة ، ويمكن دراسة التأثير البيولوجي علي المبيدات بمقارنة التغيرات التي تحدث في أرض معقمة بأخرى غير معقمة .

الميكروبات المحللة للمبيدات في الأراضي وطرق التحلل

تحليل المبيدات بيولوجيا يتم بواسطة مجموعة كبيرة من الميكروبات غير ذاتية التغذية وهذه الميكروبات توجد بوفرة في الأراضى الخصبة مثل بكتريا :
Arthrobacter, Achromobacter, Flavobacterium, Pseudomonas, Xanthomonas, Klebsiella, Corynebacterium, Bacillus and Clostridium.

ومن الأكتينوميسيتات ***Streptomyces and Micromonospora***، ومن الفطريات ***Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium, Mucor, Penicillium and Trichoderma***.

والأنواع القادرة علي التحليل تختلف حسب نوع المبيد تحت الدراسة ، فقد وجد أنه عندما يضاف مبيد الحشائش 2,4-D إلي التربة فإن جزءاً من ميكروبات التربة وأغلبها بكتريا ينشط في أكسدة هذا المبيد، ولقد اتضح أن تحلل هذا المبيد عملية بيولوجية حيث أن هذا المبيد يبقى في التربة المعقمة لمدة طويلة ، ويختلف الوقت اللازم لتحلل المبيد واختفاء السمية من التربة الطبيعية حسب الظروف البيئية وخواص الأرض الطبيعية والكيماوية واختلاف المجموعة الميكروبية السائدة في التربة .

وعموما يتطلب المبيد المضاف للتربة بالمستوي الحقلي العادي من ٢-٨ أسابيع لاختفاء السمية ، وأهم العوامل التي تحدد سرعة التحلل هي درجة الحرارة – قوام الأرض – الرطوبة – pH ، وعلي العموم فإن العمليات الزراعية التي تزيد النشاط البيولوجي تسرع من تحلل المبيدات.

أنواع البكتريا القادرة علي تحليل هذا المبيد (2,4-D) تتضمن أنواعاً تابعة للأجناس الأتية:

Arthrobacter, Achromobacter ,Corynebacterium **and** ***Flavobacterium***

وتتضمن التغيرات الميكروبية تحلل السلاسل الجانبية علي الجزئ نزع ذرات الكلور Dechlorination كما تتضمن كسر الأنوية العطرية.

أوضحت الدراسات أن ميكروبات ***Pseudomonas* and *Nocarida*** قادرة علي تحليل مركبات Chlorinated fatty acids ، وأن ***Flavobacterium*** يحلل Phenoxy herbicides كما تبين أن الميكروبات القادرة علي تحليل المبيدات التابعة لهذه المجموعة تتضمن ميكانيكية التحلل فيها كسر رابطة الإستر في المركب ، ومثل هذا التحلل يؤدي بالتالى إلي إخراج الأحماض الدهنية الداخلة في تركيب السلسلة الجانبية في تركيب جزئ المبيد مثل إنتاج حمض الخليك أو البروبيونيك، بينما لوحظ في دراسات أخرى أن تحلل المبيد يتم بطريقة الـ β–odixation وهذه العملية تؤدي إلي إزالة وحدات من ذرتي كربون من طرف السلسلة الجانبية للمركب.

ولقد أجريت دراسات أضيفت فيها عدد من مركبات Phenoxy compounds إلي التربة ودرست النواتج المتكونة ، وأظهرت هذه الدراسات أن عملية التحلل تتم أساساً عن طريق β–oxidation وأوضحت الدراسات أنه في الأراضى المعاملة بمبيدات الحشائش أمكن عزل سلالة من ***Arthrobacter*** لها قدرة علي تحليل عديد من هذه المركبات وأن هذا الميكروب قادر علي كسر حلقة البنزين ولم يلاحظ أكسدة لهذه المركبات بواسطة هذا الميكروب.

وتقوم بكتريا مثل ***Pseudomonas, Flavobacterium* and *Bacillus*** بتحليل مبيد Parathion وهو مبيد حشرى من نوع المركبات الفوسفورية العضوية ، ويحدث تحلل هذا المبيد حتى في الأراضى المغمورة والمنزرعة أرز وذلك بالتحلل المائى للمبيد بواسطة ***Pseudomonas*** مع إنتاج P–nitrophenol أو باختزال مجموعة النيترو إلي نيتريت بواسطة ***Bacillus*** .

ويجب أن نلاحظ أن تأثير الميكروبات علي المبيدات ليس دائماً في صالح تقليل سمية المبيد أو إزالتها ، ففي بعض الأحوال قد يؤدي النشاط الميكروبى إلي زيادة

سميته، لذلك فإنه يمكن تقسيم أثر الميكروبات علي المبيدات إلي ثلاثة أقسام رئيسية هي :

١-قد يكون المركب الأصلي للمبيد غير سام ولكن يتحول إلي مركب سام تحت تأثير النشاط البيولوجي في التربة وتسمي هذه العملية التنشيط Activation.

٢-قد يكون المركب الأصلي سام ويؤدي النشاط البيولوجي إلي تحوله إلي مركب غير سام Detoxification .

٣-قد تؤدي عملية التحلل البيولوجي إلي تحول المبيد السام سريع التحلل إلي مركب أخر سام أيضا وشديد المقاومة للتحلل البيولوجي وسبب هذه المقاومة غير معروف.

تمثيل المبيدات Metabolism of pesticides

عند تحلل المبيدات بواسطة الميكروبات ، فإنها تتعرض لواحد أو أكثر من أنواع التفاعلات الأتية :

١-التحلل Degradation: وفيها يتحلل المركب المعقد التركيب إلي نواتج بسيطة التركيب، وفي هذه الحالة يحدث غالبا معدنة للمبيد Mineralization وتتكون نواتج مثل CO_2, H_2O بالإضافة إلي CH_4, NH_3 وكلور إذا كان المبيد يحتوى علي نيتروجين وكلور .

٢-إزالة السمية Detoxification: وذلك بإزالة المجاميع السامة التي بالمبيد وبذلك يصبح المبيد غير سام.

٣-التنشيط Activation : وفيها يتحول المركب الأصلي للمبيد غير السام إلي مركب سام بفعل الميكروبات ، والناتج هو المبيد الحقيقي وذلك كما يحدث في حالة تنشيط مبيد الحشائش (2,4-D B) إلي 2,4-D وكذلك في تنشيط مبيد الحشرات Phorate.

٤-Additive reactions تفاعلات إضافة وفيها يحول الميكروب المركب البسيط إلي مركب أكثر تعقيدا بإضافة مجموعات كيماوية من نواتج التمثيل الغذائى إليه مثل إضافة مجموعة ميثيل، مجموعة من حمض أميني أو حمض عضوي أو إحداث بلمرة

للمركبات الحلقية كما يحدث في حالة مبيد الحشائش المسمى **Propanil** حيث تتكثف الحلقة إلي حلقتين .

Propanil ⟶ 3,4dichloroanilin ⟶ 3,4–dichlorophenyl hydroxylamine ⟶ A product of 2 benzine rings

٥– Defusing وفيها يتحول المركب غير السام الذي يمكن أن يتحول بالتنشيط إلي مركب سام إلي ناتج غير سام لا يتأثر بعد ذلك بعملية التنشيط.

٦–تغير مدي السمية Changing the spectrum of toxicity وفيها يتحول المبيد السام لمجموعة معينة من الأفات إلي مبيد سام لأكثر من مجموعة من الكائنات ، وذلك كما يحدث في حالة مبيد الفطريات المسمي **Penta chloro–benzyl alcohol** الذي يتحول إلي **Chlorinated benzoic acid** الذي يقتل النباتات أيضاً.

وتحلل الميكروبات المبيدات بطرق متعددة وتمثل التفاعلات التالية الخطوات الأولى في تمثيل المبيد:

١) إضافة مجموعة هيدروكسيل .

$$R-CH_3 \longrightarrow R-CH_2OH$$

٢) إزالـة أو إضـافة مجموعـة ميثيـل أو أكثـر وهـذه التفـاعلات كثيـرة الحـدوث فـي المبيدات .

$$RN\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} \longrightarrow RNH_2$$

٣) إزالـة الكلـور وبـذلك تـزول سـمية المركـب ويحـل محـل الكلـور ذرة أيـدروجين أو مجموعة أيدروكسيل.

$$RCH_2\ Cl \longrightarrow RCH_2OH$$

٤) أكسدة الكبريت.

$$R-S \longrightarrow R-SO_2$$

٥) اختزال مجموعة النيترو لتصبح نيتريت أو أمين.

$$R-NO_2 \longrightarrow R-NH_2$$

وقد تستبدل مجموعة النيترو بمجموعة أيدروكسيل.

$$R-NO_2 \longrightarrow R-OH$$

٦) تحلل السلسلة الجانبية المتصلة بالحلقة العطرية أو كسر رابطة الإستر.

ويسبق هذا التفاعل كسر النـواة العطريـة ، والحمـض الـدهني النـاتج يتحلـل بطريقـة β–oxidation مـع إنتـاج حمـض الخليك وهذا التحلـل يؤدي إلـي إزالـة وحدات مـن ذرتين كربون من طرف السلسلة الجانبية للمركب في كل خطوة .

$$R-CH_2-CH_2-CH_2-COOH \rightarrow R-CH_2-CO-CH_2-COOH \rightarrow$$
$$R-CH_2-COOH + CH_3-COOH$$

٧) التحلل المائى لجزئ المبيد

$$R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-OR1 + H_2O \xrightarrow{H_2O} R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-OH + R1-OH$$

٨) كسر النواة العطرية

يتطلب كسر النواة العطرية للمبيد إضافة أكسجين الهواء الجوي ، وتنتج من الأكسدة مركبات مثل حمض الخليك والبيروفيك والسكسنيك والفيوماريك والأسيتالدهيد ، وفي حالة غياب أكسجين الهواء الجوي أى تحت الظروف اللاهوائية فإن المركبات العطرية تظل متراكمة بالتربة.

تأثير المبيدات علي النشاط البيولوجي

نتائج البحوث في هذا المجال متناقضة تناقضاً كبيرا فمنها ما وجد أن لها تأثيرا منشطاً ، ومنها ما وجد أن لها تأثيرا مثبطاً ، والبعض كان تأثيره محدودا ، وذلك الاختلاف في النتائج راجع لجملة أسباب ، فالاختلاف في النتائج قد يرجع إلي اختلاف الوقت الذي قدر فيه أثر المبيد بعد إضافته للتربة ، وهذه النقطة لها أهمية خاصة فقد لوحظ من الدراسات أن بعض المبيدات قد يكون لها تأثير واضح علي النشاط البيولوجي في التربة بعد إضافتها مباشرة ، ويستمر هذا الأثر لمدة محدودة ثم بعد ذلك يستعيد النشاط البيولوجي مستواه الطبيعي ، بل قد يفوق مستواه الأصلي لذلك فإن الوقت الذي تأخذ فيه العينة بعد إضافة المبيد له أهمية كبيرة في اختلاف أثر المبيد.

كما تختلف النتائج باختلاف تركيز المبيد لذلك فإن المبيد مثله مثل أى مادة سامة قد يكون في تركيز معين له تأثير ضار علي الميكروبات بينما في تركيز أخر أقل قد لا يكون له تأثير أو قد يكون تأثيره منشطاً ، كما تختلف النتائج حسب المجموعة التي يدرس أثر المبيد عليها فقد يكون المبيد مثبطاً لمجموعة معينة وليس له تأثير علي مجموعة أخرى.

وعموماً فإن كثيرا من الدراسات قد أوضحت أن استخدام مبيدات الحشائش بالمعدلات الحقلية العادية ليس له تأثير ملحوظ علي النشاط البيولوجي في التربة ، كما أظهرت نتائج مشابهة بالنسبة لمركبات من مبيدات الحشائش مثل Aldrin Chloridane benzene hexachloride, DDT, Parathion, Dialdrin,

ومـن ناحيـة أخـرى وجـد أن أكثـر العمليـات البيولوجيـة تـأثرا بالمبيـدات هـي عمليتـي التـأزت وتثبيـت النيتـروجين الجـوي التكافليـة ، فبالنسـبة لعمليـة التـأزت فمـن المعروف أن هذه العملية تقوم بها مجموعة محددة متخصصة من الميكروبات وهذا يجعلها شديدة الحساسية لتغير الظروف مقارنة مع عملية أخرى مثل عمليـة النشدرة مـثلاً والتـي تقـوم بهـا أنـواع كثيـرة مـن الميكروبـات بعضـها حسـاس وبعضـها غيـر حساس مما يجعلها لا تتأثر كثيرا بالمبيدات أما عمليـة تثبيت النيتـروجين التكافليـة فمن الواضح أن إضافة أحد المركبات في مناطق جذور النباتـات لمقاومـة فطر معين مـن الفطريـات التـي تصـيب الجـذور يمكـن أن يـؤدي إلـي إحبـاط عمليـة تكـوين العقـد البكتيريـة ، وعلـي العمـوم فإنــه مـن الضـروري قبـل إدخـال مبيـد جديـد فـي التطبيـق الزراعي أن ندرس مدي أثاره ومدى أضراره علي النشاط البيولوجي ومدي تـأثيره علـي تلوث النشاط البيئي .

المقاومة الحيوية Biological control

علي الرغم من أن المقاومة الكيميائية للأفات باستخدام المبيدات تعتبر علي درجة كبيرة من الأهمية ، ولكن يجب ألا نغفل الأثار السيئة والضارة للإنسان والحيوان والحشرات النافعة والتى ترتبت على الإسراف في استخدام المبيدات ، كذلك نجد أن الكائنات الحية الدقيقة التي تقوم بعمليات بيولوجية هامة ومفيدة في التربة تتأثر هي الأخري بسبب استخدام المبيدات في المقاومة ، ومن أهم الكائنات الحية الدقيقة التي تتأثر بذلك بكتريا التأزت والبكتريا التي تثبت أزوت الهواء الجوي سواء التي تعيش حرة في التربة أو البكتريا التكافلية بالإضافة إلي ما تسببه بقايا هذه المبيدات من تلوث للبيئة.

ومنذ أن بدأ الإنسان في الاستخدام المكثف لهذه المبيدات بهدف مقاومة الأفات للحصول علي إنتاج محصول عالي فقد أخل بالتوازن البيئي بسبب القضاء علي المفترسات الطبيعية والتي كانت تلعب دورا هاما في القضاء علي الآفات الحشرية بافتراسها والتغذية عليها.

وبسبب الأثار الضارة والتي تنتج من استعمال المبيدات في المقاومة فقد بدأ الاهتمام في السنوات الأخيرة في التوسع في استخدام طرق المقاومة البديلة ومنها المكافحة البيولوجية، ومن المعروف أن الكائنات الحية الدقيقة التي تتميز بظاهرة التضاد لها دور كبير في مقاومة كثير من أمراض النبات مثل أمراض محاصيل الخضر والفواكه ونباتات الزينة ومحاصيل الحقل.

هذا ونجد أن ظاهرة التضاد الميكروبي تعتبر من أهم طرق المقاومة الحيوية الملائمة وتعتبر ذات كفاءة عالية في الوقت الحالي وذلك لتوفر المعرفة الجيدة عن أهم الكائنات الحية الدقيقة والتي أثبتت قدرتها علي التضاد وليس هذا فحسب بل وأصبح الأن من السهل تنمية هذه الكائنات علي البيئات الصناعية معملياً وإعداد اللقاحات الخاصة بها لاستخدامها في مجال المكافحة البيولوجية.

تعريف المقاومة الحيوية

المقاومة الحيوية هي استعمال بعض الكائنات الحية الدقيقة وغير الدقيقة الطبيعية أو المهندسة وراثياً لخفض تأثير الكائنات الحية الدقيقة غير المرغوب فيها وكذا الحشرات الضارة.

الخصائص الواجب توافرها في الكائن الحي المستخدم في المقاومة الحيوية

لكي يكون الكائن الحي فعال في المقاومة الحيوية لأمراض النبات يجب أن يتوفر فيه ما يلي:

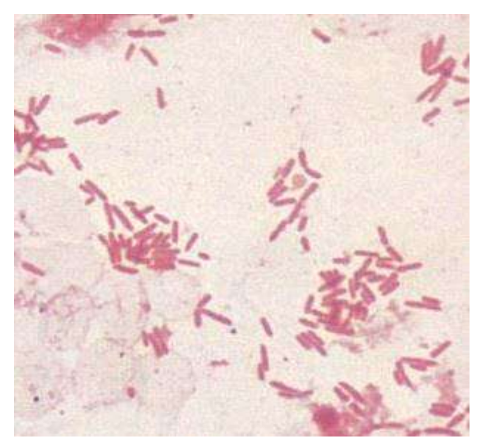
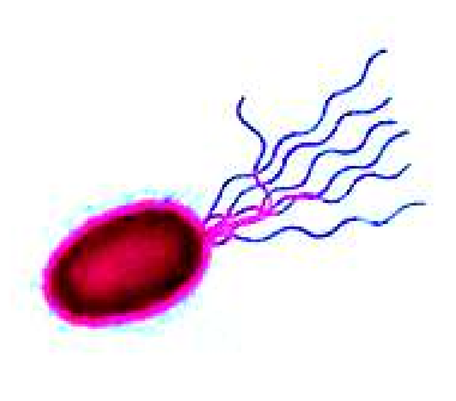
- أن يكون له القدرة علي إنتاج مضادات حيوية فعالة ضد المسببات المرضية سواء كانت بكتريا أو فطر.
- أن يكون لديه قدرة عالية علي التنافس علي الغذاء أو المكان الضروريان لنمو الكائن الغير مرغوب (الممرض).
- أن يكون لديه القدرة علي إنتاج مواد هرمونية تزيد من نمو ومقاومة النبات مثل الجبريللينات أو الأوكسينات.
- أن يكون هذا الكائن غير ضار للنبات.
- أن يكون له معدل نمو أسرع من الكائن الغير مرغوب فيه.
- أن يكون له القدرة علي تحمل ظروف النمو المتغيرة من درجات حرارة ورطوبة و pH.

أهم الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة في مجال المقاومة الحيوية

أولاً: البكتريا

يوجد عدد من الأجناس البكتيرية تستخدم في مجال المقاومة الحيوية ومنها:

١-جنس Pseudomonas والأنواع البكتيرية التي تنتمي إلي هذا الجنس ذات شكل عصوي قصير ، متحركة بواسطة سوط واحد أو أكثر وبعض أنواع هذا الجنس تسمي البكتريا الوميضية وذلك لأنه عند تنميتها علي البيئات الغذائية تنتج صبغات لامعة خضراء مصفرة .

شكل ٥(٢)٢: بكتريا .*Pseudomonas* sp

وأهم الأنواع التي تستخدم في المقاومة الحيوية لأمراض النبات هي

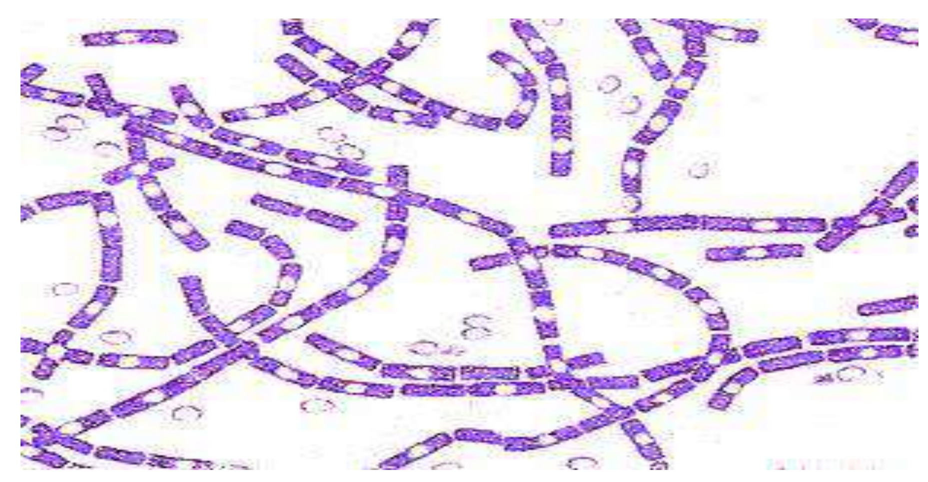
Ps. fluorescence , Ps. putida and Ps. aeruginosa

وتستطيع السلالات التي تتبع النوع ***Ps. fluorescence*** أن تثبط بعض مسببات الأمراض النباتية الكامنة في التربة حيث تفرز هذه البكتريا بعض المواد التي لها دور فعال في تثبيط الفطريات الممرضة مثل , **Phenazine– 1– Carboxylic acid** ومن **hydrogen cyanide , Oomycin A and pyrrolintrin.**

أهم الفطريات التي يمكن أن تقاوم حيوياً بأنواع بكتريا جنس ***Pseudomonas*** هي ***Pythium ultimum , Rhizoctonia solani , Fusarium oxysporum*** والتي تسبب سقوط للبادرات أو أمراض الذبول عموما

٢- جنس ***Bacillus***

الأنواع البكتيرية التي تنتمي إلي هذا الجنس عبارة عن بكتريا ذات شكل عصوي طويل – هوائية إجبارية – موجبة لصبغة جرام – تكون جراثيم داخلية وتتحرك بواسطة الأسواط.



شكل ٥(٢)٣: بكتريا. ***Bacillus* sp**

من أهم الأنواع التي تتبع هذا الجنس وذات أهمية كبيرة في المقاومة الحيوية هي *Bacillus subtilis* , *Bacillus cereus* , *Bacillus mycoides* , *Bacillus megaterium* and *Paeinbacillus polymyxa.*

ولقد أوضحت الدراسات الحديثة التي أجراها Podil *et al* سنة ١٩٩٥ م أن بكتريا *B. subtilis* تثبط نمو الفطريات الممرضة للنبات عن طريق إفراز مواد ذات تأثير مثبط للفطريات تشبه المضادات الحيوية كذلك تعمل هذه البكتريا علي إيجاد نوع من المقاومة المستحثة Inducible resistance في بعض العوائل النباتية مثل البسلة والفول السوداني ، وقد ثبت من بعض البحوث والدراسات أن بكتريا *B. subtilis* تمنع إصابة بادرات الموالح ببكتريا *Xanthomonas citri* المسبب لمرض التقرح في الموالح ، كذلك استخدمت نفس البكتريا في مقاومة مرض الجذر الأسود في البنجر الذي يسببه الفطر *Rhizoctonia solani* أيضا تستخدم سلالات من هذه البكتريا في مقاومة مرض سقوط البادرات في القطن وفي أمراض أعفان الجذور في فول الصويا والبرسيم الحجازي كذلك يوجد طريقة أخري تعتمد عليها هذه البكتريا في المقاومة الحيوية وهي تحليل جدر خلايا الفطر الممرض من خلال إفرازها للإنزيمات المحللة للشيتين مثل تحليل جدر خلايا فطر *Aspergillus niger* بواسطة بكتريا هذا الجنس ، وعموماً أظهرت نتائج البحوث التي أجريت في

الفترة الأخيرة أن من أهم الأمراض النباتية التي يمكن أن تقاوم بهذه البكتريا مرض سقوط البادرات في البرسيم الحجازي ومرض العفن التاجي في الفول السوداني وكذلك مرض العفن الرمادي المتسبب عن الفطر *Botrytis cinerea* ، أيضاً من البكتريا التي تستعمل بنجاح في مقاومة الحشرات *Bacillus thuringiensis* وهذه البكتريا متجرثمة وموجبة لجرام ، وتتميز هذه البكتريا بأنها تنتج عديد من التوكسينات منها الداخلي ويسمي d- endotoxin ويوجد التوكسين داخل الاسبورانجيا من شكل بللوري ، أو تفرز توكسينات خارجية ومنها أنواع α , β and γ exotoxins والتوكسين بيتا قابل للذوبان في الماء ومن أنجح السلالات البكتيرية في مقاومة يرقات بعض الحشرات السلالة . *B. thuringiensis* var *thuringiensis*.

وعندما تتغذى الحشرات على الأوراق التى عوملت بمعلق الجراثيم التى تكونها البكتريا سواء بالرش أو التعفير يحدث تسمم للحشرات نتيجة التغذية بميكانيكيات مختلفة فمثلا فى كثير من حرشفيات الأجنحة يحدث شلل فى بلعوم اليرقة ثم امتناع عن الآكل وتموت الحشرة خلال ٢-٤ أيام من غزو البكتريا لجسم الحشرة، وفى حالات أخرى يحدث شلل عام لليرقة بعد التغذية على الأوراق المعاملة بالبكتريا مع ارتفاع فى قلوية سوائل الجسم، ويمكن أن تستخدم هذه البكتريا بنجاح فى مقاومة يرقات دودة ورق القطن والكرنب وحشرة الإفستيا، ومن أنواع البكتريا الأخرى التى تنتمى إلى جنس *Bacillus* والتى تستخدم فى مقاومة الحشرات بكتريا *B. popillia* التى تستعمل فى مقاومة يرقات البعوض.

تسمي التحضيرات الميكروبية التي تستعمل في مقاومة الأفات باسم المبيدات الميكروبية Microbial pesticides ، يشترط فيها أن لا تكون ضارة بالإنسان أو الحيوان ، لذلك يجب أن تمر بسلسلة طويلة من التجارب علي حيوانات التجارب قبل التصريح باستعمالها ، ومن المعوقات التي مازالت تحد من استعمال هذه التحضيرات في المقومة ما يلي :

١. عدم ظهور الأثر السريع للتحضيرات البيولوجية علي الأفات ، نظرا لأنها تحتاج إلي فترة حضانة داخل جسم الحشرة أو الأفة.
٢. ليست ذات نطاق متسع من التأثير إذ أن تخصصها محدد لعائل أو عوائل معينة ، كما أنها تحتاج لدقة في التوقيت عند استعمالها.
٣. لا يظهر الأثر المطلوب للمبيد الحيوي إلا إذا تغذت الأفة علي الأوراق المعاملة بالتحضيرات الميكروبية.

ثانياً: الأكتينوبكتريا

تسمي هذه البكتريا بالشبيهة بالفطر حيث تكون هيفات متفرعة تحمل عليها سلاسل من الجراثيم الكونيدية ومن أهم أجناسها جنس ***Streptomyces*** وتتميز أفراد هذا الجنس بإفراز صبغات متعددة الألوان ، والأنواع التي تتبع هذا الجنس تفرز العديد من المضادات الحيوية والفعالة في مقاومة مسببات أمراض النبات البكتيرية والفطرية، أيضاً أنواع هذا الجنس تفرز عديد من الإنزيمات المحللة لجدر خلايا الفطريات الممرضة مثل Cellulase , Hemicellulase , Chitinase and Glucanase .

ومن أهم الأنواع التي تتبع هذا الجنس وتستخدم بكثرة في مقاومة بعض أمراض النبات بيولوجياً ما يلي :

Str. lydicus , Str. griseoplanus , Str. murimus ,

Str. cyanovirides **and** ***Str. aureofaciens .***

ميكانيكية تأثير جنس *Streptomyces* علي مسببات أمراض النبات

١. تحدث بعض أنواع هذا الجنس تثبيط لنمو الجراثيم كما في حالة ***Helminthosporium sativum*** أو تحدث تحلل لميسيليوم الفطر الممرض.
٢. التطفل علي الكائن الممرض أو تحليل جدار خلية الفطر بإفراز إنزيمات خارجية.
٣. إفراز مضادات حيوية ومن أهم هذه المضادات Polyenes & Cinnamycin وهذه المضادات تنتج بواسطة ***St. cinnamomeus*** أما النوع ***Str.***

hygroscopicus **ينتج المضاد الحيوي geldanamycin وهذه المضادات لها تأثير فعال ضد الكثير من مسببات أمراض النبات الفطرية.**

٤. إنتاج بعض المواد المضادة المتطايرة مثل الكلوروفين وحمض الكربوكسيلك والهيمي بيوثيانين.

٥. منافسة الكائن الممرض علي الماء والغذاء فى البيئة.

ومن أهم الأمراض التي تقاوم حيوياً باستعمال أنواع جنس *Streptomyces* ذبول الموز الذي يسببه فطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubens* وعفن جذور نباتات قصب السكر والذرة الذى تسببه الأنواع التابعة للجنس *Pythium* .

كذلك وجد أن غمر البذور أو الشتلات في معلق من راشح ميكروب *Streptomyces ochraceiscleroticus* يؤدي إلي خفض نسبة الذبول في القطن ، الفلفل ، الباذنجان ، الطماطم ، البطيخ والخيار بنسبة تتراوح من ٧٤ – ٩٣٪ طبقاً لنوع العائل وكثافة المسبب المرضي أيضاً يمكن أن يقاوم عفن الجذور المتسبب عن فطر *R. Solani* أو ذبول الفيوزاريوم بواسطة سلالات من جنس *Streptomyces*

ويوجد بكتريا أخري تستخدم بنجاح في المكافحـة البيولوجية لأمراض النبات مثل استخدام بكتريـا *Erwinia herbicola* في مقاومة اللفحة النارية في الكمثري وبكتريا *Agrobacterium radiobacter* التي تستخدم في مقاومة التدرن التاجي في أشجار الحلويات.

ثالثاً: الفطريـات

يوجد عدد من أجناس الفطريات تستخدم في المقاومة الحيوية منها:

١– جنس *Trichoderma*

يضم هذا الجنس مجموعة من الأنواع الفطرية التي أثبتت الدراسات فاعليتها في مجال المكافحة البيولوجية ومن أهم هذه الأنواع :

***T. harzianum* , *T. hamatum* , *T. viride* , *T. polysporum* ,**

T. koningii* and *T. pseudokoningii.

ومما هو جدير بالذكر أن المقاومة الحيوية بدأت في الحقل باستخدام جنس ***Trichoderma*** بواسطة العالم ***et al*** **Well** سنة ١٩٨٢م باستخدام تحضيرات من فطر تريكودرما النامي علي بيئة صلبة تحتوي علي حبوب القمح أو الشيلم لمقاومة الفطر الممرض ***Sclerotium rolfsii*** علي نباتات الطماطم وذلك في الحقل ولقد وجد أن مقاومة الفطر الممرض بهذه الطريقة تعادل مقاومته باستخدام المبيد الفطري **Pentachloro nitro- benzene (PCNB).**

ومن أهم أمراض النبات الفطرية التي أمكن مقاومتها بنجاح باستخدام فطر ***T. harzianum*** ما يلي :

١. أمراض ذبول الطماطم والمتسببة عن فطر ***F. oxysporum f.sp. lycopersici*** .
٢. أمراض أعفان الجذور في النارنج والفولكاماريانا والذي يسببها فطر ***R. solani***
٣. مرض العفن الأبيض في البصل المتسبب عن فطر ***Sclerotium cepivorum*** وأمراض ذبول القطن والخيار المتسببة عن فطر ***Verticillium dahlia.***
٤. وهذه الأمراض السابقة تقاوم بواسطة حقن سلالات فطر ***Trichoderma*** في التربـة ، أيضاً يمكن أن تقاوم الأمراض الفطرية بواسطة فطر ***Trichoderma*** بواسطة معاملة البذور عند الزراعة حيث أن هذه الطريقة تحتاج إلي كميات قليلة من اللقاح عند مقارنتها بالطريقة السابقة (معاملة التربة).

ومن أهم الأمراض التي أمكن مقاومتها جيداً سقوط البادرات المفاجئ في البسلة والمتسبب عن فطر ***R. solani*** وذلك بمعاملـة البذور بالجـراثيم الكونيدية للفطر ***T. hamatum*** كذلك تم الحصول علي نحو جيد وزيادة في الإنتاج لمحصول فول الصويا المزروع في تربة معداه بالفطر الممرض ***R. solani*** عند معاملة البذور بفطر المقاومة الحيوية ***T. pseudokoningii*** ، أيضاً تم الحصول علي نتائج مشجعة عند معاملة حبوب الذرة وبذور القطن بالفطر ***T. harzianum*** في وجود الفطر الممرض ***R. solani*** .

ومن أهم المضادات الحيوية التي يفرزها الفطر *Trichoderma* هى:
Trichodermol ويفرزه الفطر *T. polysorum*.
Harziandione ويفرزه الفطر *T. harzianum* ، كذلك يوجد مضادات حيوية أخري تفرزها سلالات من الفطر *T. harzianum* منها 6- polyketides pentyl -2- pyrone , Pyridone harzianopyridone.

ميكانيكية تثبيط فطر *Trichoderma* للفطريات الممرضة

أ-إنتاج العديد من المضادات الحيوية والتي تثبط فعل المسبب المرضي .
ب-إنتاج إنزيم β- 1,3 - glucanase المحلل لجدر خلايا الفطر الممرض.
ج-اختراق خلية العائل وإنتاج إنزيم السليوليز حيث يؤدي إلي تحطيم خلايا الكائن الممرض.
د-حدوث تفاعل تطفلي بين هيفات فطر Trichoderma حيث تلتف حول هيفات الفطر الممرض وتحطم خلاياه.

٢- جنس *Gliocladium*

أنواع هذا الفطر تستطيع أن تعيش في ظروف بيئية مختلفة حيث تتواجد في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية والمعتدلة ومن أهم السلالات التي تستخدم علي نطاق تجاري في المكافحة البيولوجية من هذا الفطر هي :
G. roseum , *G. virens* , *G. deliquescens* , *G. flavafuscum* and *G. vermoesenii* .
ولقد أثبتت الدراسات الحديثة أن أنواع هذا الجنس تفرز العديد من المضادات الحيوية مثل:
Viridin , Gliotoxin , Gliovirin , Ferulic acid and Nectriapyrone

طرق فعل فطريات جنس *Gliocladium* علي الفطريات الممرضة

يعتمد فعل هذه الفطريات في المقاومة الحيوية علي منافسة الفطريات الممرضة علي المواد الغذائية والتطفل الفطري Mycoparasitism ، كذلك وجد أن

هذه الفطريات تعوق استعمار الأنسجة النباتية بواسطة الفطريات الممرضة ، أيضاً تنتج هذه الفطريات الكثير من المثبطات الفطرية سابقة الذكر وبعض الإنزيمات المحللة لجدر خلايا الفطريات الممرضة.

ومن أهم الفطريات الممرضة التي تقاوم بيولوجيا بفطر ***Gliocladium roseum*** فطر ***Botrytis cinerea*** أثناء وجوده علي عوائله المختلفة مثل الفراولة والطماطم والجيرانيوم، أما عن الفطريات التي تقاوم بالفطر ***Gliocladium virens*** فهي الأنواع الفطرية التي تنتمي إلي جنس ***Phytophthora*** مثـل ***P. cactorum*** ***P. nicotinae*** **and** ***P . fragariae*** وكل هذه الفطريات تحدث أمراض تعرف بالأمراض الكامنة في التربة مثل أعفان الجذور أو الذبول.

كذلك توجد فطريات أخري تستخدم في مجال المكافحة البيولوجية مثل الفطر ***Cladorrhinum foecundissimum*** و ***Talaromyces flavus*** والتي يمكن أن تستخدم في مقاومة أمراض الذبول لكثير من العوائل النباتية مثل الطماطم والبطاطس والفاصوليا والتي تسببها الفطريات الممرضة التي تنتمي إلي أجناس ***Verticillium*** **and** ***Sclerotium , Rhizoctonia*** وهناك فطريات أخـري مثـــل ***Chaetomium globosum*** ، ***Fusarium proliferartum*** تستخدم في المقاومة الحيوية لأمراض البياض الدقيقي والزغبي في العنب.

رابعاً :الفيروسات

من الفيروسات التي تستعمل بنجاح في مقاومة الحشرات ما يلي:

-DNA viruses, e.g. Nuclear polyhedrosis viruses and granulosis viruses.

-RNA viruses, e.g. Cytoplasmic polyhedrosis viruses.

ومن أمثلة التطبيقات الناجحة في استخدام الفيروسات بالولايات المتحدة الأمريكية استخدام ٥ جالون/هكتار من معلق**Nuclear polyhedrosis** للرش بالطائرات لمقاومة يرقات حشرة البرسيم.

خامساً:الريكتسيا

وجد أن ريكتسيا *Rickettsia popilliae& R. grylli* ممرضة للحشرات من رتب Coleopter, Lepidoptera. Orthoptera.

البكتريا التى تستخدم في مكافحة الحشرات

من البكتريا التي تستعمل بنجاح في مقاومة الحشرات *Bacillus thuringiensis* ، هذه البكتريا واسعة الانتشار في الطبيعة ، فهي توجد في التربة والمخلفات الزراعية والحيوانية والحشرات الميتة ، والميكروب عصوى متجرثم قريب الشبه ببكتريا *B. cereus* ، وهو يشمل مجموعة من السلالات يبلغ عددها ١٩ سلالة ، يميز بينها سيرولوجيا بخواصها الأنتجينية (H-antigen) ويتميز هذا الميكروب بأنه يكون توكسينات متعددة :

١. الداخلى d-endotoxin ويوجد في شكل بللورى بداخل الاسبورانجيا Toxic parasporal body, Crystalline inclusion ، شكل البللورة وحجمها يختلف باختلاف السلالة ، فقد تكون البللورة ذات شكل مغزلى وهو الغالب أو تكون مكعبة الشكل أو غير منتظمة في بعض الأحيان.
٢. ومنها الخارجي من أنواع α , β,γ - exotoxins والتوكسين الخارجي بيتا الذي تفرزه بعض سلالات هذه البكتريا ، قابل للذوبان ، مقاوم للحرارة وشديد السمية لبعض الحشرات مثل الذبابة المنزلية ، غير أنه سام أيضاً للنبات والثدييات لذا فإن وجوده في التحضيرات الميكروبية ممنوع قانوناً في بعض البلاد.

ومن أنجح سلالات هذه البكتريا في مقاومة يرقات الحشرات التابعة لرتب Lepidoptera, Coleoptera, Hgymenoptera & Orthoptera السلالة H1 المسماه *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* ، وهي تكون بللورة سامة بالاسبورانجيا من نوع d-endotoxin ، هذا التوكسين عبارة عن

جليكوبروتين ، ذو وزن جزيئى مرتفع قد يصل إلي ٢٥٠ ألف دالتون والجزء السام به هو السلسلة عديدة الببتيدات.

يحدث التسمم للحشرة نتيجة التغذية بهذا التوكسين باستجابات مختلفة ، فمثلا في حالة دودة الحرير *(Bombyx mori)* يحدث لليرقة شلل عام بعد التغذية بالتوكسين مع ارتفاع في قلوية سوائل الجسم ، بينما في كثير من حرشفيات الأجنحة الأخرى يحدث شلل في بلعوم اليرقة فقط ثم امتناع عن الأكل ، وتموت الحشرة خلال ٣-٤ يوم من غزو الميكروب لجسمها.

يوجد الأن مستحضرات تجارية من هذه السلالة البكتيرية تستخدم في مقاومة الحشرات في بعض البلاد، يحتوى الجرام منها علي ما لا يقل عن $١٠^{٨}$ جرثومة ، وهي تنتج في صورة مبتلة أو جافة ، ترش بها أو تعفر أوراق النباتات المصابة بالحشرات ، وتستعمل هذه التحضيرات بنجاح ضد يرقات دودة ورق القطن والكرنب ، فراش شمع نحل العسل ، ويرقات الناموس وحشرة الإفستيا **Effestia**.

أنواع بكتيرية أخرى

- *Bacillus popillia*

تكون هذه البكتريا بللورة سامة ذات تركيب بروتيني داخل الاسبورانجيا ، وهي تسبب **Milky disease** للخنفساء اليابانية ***Popillia japonica*** .

-*Bacillus sphaericus*

تستعمل هذه البكتريا في مقاومة يرقات البعوض من جنسى ***Culex, Anopheles*** ، وهذه البكتريا لا تكون بللورات سامة بداخلها ، ولكن عندما تتغذى عليها يرقات الناموس ، فإن البكتريا تتحلل في بلعوم اليرقة وينفرد التوكسين الموجود بجدار خلية البكتريا فتموت اليرقات بعد ٨- ١٠ ساعات.

الفطـريات التى تستخدم في مكافحة الحشرات

يصـيب الفطـر أولاً السـطح الخـارجي للحشـرة ، ثـم تنمـو الجـراثيم الكونيديـة للفطر ، وتحت ظروف الحرارة والرطوبة المناسبة تمتد نموات الفطر إلـي داخل جسم الحشرة ، وبذلك يتواجد الفطر خارج وداخل جسم الحشرة.

ومن أمثلة الفطريات المستعملة بنجـاح في مقاومـة الحشرات ***Beauveria bassiana*** ويسـتعمل هذا الفطر فـي مقاومـة خنفسـاء بطـاطس كلـورادو بـالرش بمعـدل ١–٢ كجم/هكتـار بوفـارين ، وهـو تحضـير فطـرى يحتـوى علـي ٣ × ١٠ ^١٠^ جراثيم كونيدية / جم.

جدول يوضح بعض الأمراض النباتية والميكروبات التى تستخدم فى مقاومتها

اسم المرض	الميكروب المسبب	الكائن المستخدم في المقاومة
عفن الريزوكتونيا في القمح	***Rhizoctonia solani***	***Bacillus subtilis***
التبقع الشبكي في الشعير	***Drechslera teres***	***Pseudomonas fluorescence*** ***Pseudomonas*** **sp.**
الذبول في القمح والشعير	***Fusarium culmorum***	***Gliocladium roseum***
البياض الدقيقي في الشعير	***Erysiphe graminis*** **f.sp.** ***hordei***	***Bipolaris maydis***
سقوط البادرات في الذرة	***Pythium*** **sp.** , ***Fusarium*** **sp.**	***Septoria nodorum*** ***T. viride , G. virens***
سمطة الورقة في قصب السكر	***Xanthomonas albilineas***	***Erwinia herbicola***
لفحة الغمد في الأرز	***R. solani , A. niger***	***P. putida , P. fluorescens***
سقوط البادرات في الطماطم	***R. solani , Pythium*** **sp.**	***B. subtilis, P. fluorescens*** ***P. aeruginosa***

ذبول الفيوزاريوم في الطماطم	*F. oxysporum* f.sp. *Lycopersici*	*Trichoderma harzianum* *Trichoderma koningii*
الذبول البكتيري في الطماطم والبطاطس	*P. solanacearum*	*Streptomyces mutabilis* *Streptomyces corchorusii*
اللفحة المبكرة في الطماطم	*Alternaria solani*	*Streptomyces canescens*
الذبول الفطري في الطماطم والبطاطس	*Sclerotium rolfsii*	*Gliocladium virens*
اللفحة المتأخرة في البطاطس	*Phytophthora infestans*	*T. pseudokoningii*
الجرب العادي في البطاطس	*Streptomyces scabies*	*Streptomyces lydicus*
اللفحة النارية في الكمثري والتفاح	*Erwinia amylovora*	*Erwinia herbicola ,* *P. fluorescence*
الجرب في التفاح	*Venturia inaeqaulis*	*Chaetomium globosum*
البياض الدقيقي في العنب	*Uncinula necator*	*Ampelopyces quisqualis*
البياض الزغبي في العنب	*Plasmopara viticola*	*Fusarium proliferatum*
التدرن التاجي في العنب	*Agrobacterium vitis*	*Agrobacterium radiobacter*
التقرح في الحمضيات	*Xanthomonas campestris*	*B. subtilis, P. fluorescence* *T. harzianum, T. viride*
أمراض الجذور في البسلة	*Pythium debaryanum* *R. solani, F. oxysporum* f. *pisi*	*B. subtilis , T. harzianum* *P. fluorescence*

سقوط البادرات في الفاصوليا	*Sclerotium rolfsii*	*Gliocladium virens* *Trichoderma harzianum*
العفن الأبيض أو عفن الإسكليروتينيا	*Sclerotinia sclerotiorum*	*Epicoccum nigrum* *Alternaria alternate* *Erwinia herbicola*
عفن البوترايتيس علي أوراق الفاصوليا	*Botrytis cinerea*	*T. harzianum*
عفن الاسلكلورشيم	*Sclerotium rolfsii*	*Glomus fasciculatum*
ذبول الفيرزاريوم في الحمص	*F. oxysporum , F. ciceris*	*P. fluorescence , B. subtilis*
عفن الساق والثمار في الفول السوداني	*Sclerotium rolfsii*	*T. harzianum,* *T. hamatum*
أنثراكنوز الخيار	*Colletotrichum orbiculare*	*P. fluorescence*
التبقع الزاوي في الخيار	*P. syringae* pv. *lachrymans*	*P. putida* *Serratia marcescens*
الذبول في الخيار	*F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum*	*P. putida* *Serratia marcescens*
البياض الدقيقى في الخيار	*Sphaerotheca fuliginea*	*Tilletiopsis pallescens* *Tilletiopsis* *Verticillium lecanii*
الذبول في القطن	*Fusarium oxysporum f.sp. vasinfectum*	*P. fluorescence, B. subtilis*
مرض سقوط البادرات في القطن	*Rhizoctonia solani* *Pythium debaryanum*	*P. putida* *P. fluorescence*
ذبول الفيرتيسليوم في القطن وعوائل أخري .	*Verticllium dahlia*	*Glomus mosseae,* *Glomus versiforme* *Sclerocystis sinuosa*

لفحة (عفن) القمة في عباد الشمس	*Sclerotinia sclerotoiorum*	*Talaromyces flavus* *Trichoderma viride* *Gliocladium catenulatum* *P. fluorescence , P. putida*
سقوط بادرات العصفر	*Pythium ulitmum* *Pythium debaryanum*	*P. fluorescence ,* *Erwinia rhapontici* *Bacillus polymyxa*
سقوط بادرات بنجر السكر	*Pythium ulitmum*	*Pseudomonas putida*

(الباب الخامس – الفصل الثالث)

العلاقات الميكروبية في التربة Microbial relation in soil

الميكروبات في وسطها الطبيعي التي تعيش فيه توجد بينها وبين بعضها عديد من العلاقات، وهذه العلاقات العديدة بين مختلف المجموعات الميكروبية في التربة في تغيرات مستمرة تعطي علاقة ديناميكية مميزة للمجموعة الميكروبية لكل تربة.

ومن المعروف أن المحتوي الميكروبي Microflora في أى وسط يتحكم فيه الاتزان البيولوجي الناتج عن علاقات التعاون والتضاد والتداخل بين عمل أفراد المجموعة الميكروبية ، وتؤدي التغيرات البيئية إلي اختلال مؤقت في الاتزان البيولوجي ولكن حالة الاتزان لا تلبث أن تعود إلي مستواها العادي أو قد تعود بصورة معدلة قليلاً لتلائم التغير الجديد في ظروف الوسط.

توجد الميكروبات المختلفة في التربة في صورة معقدة ويتداخل فعلها بطريقة تختلف كثيرا عن ما يحدث في المزارع النقية لهذه الميكروبات، فكثير من الميكروبات الموجودة في التربة تعتمد علي غيرها في إمدادها بمواد لازمة لنموها ، بينما البعض الأخر تنتج مواد معينة يستخدمها البعض الأخر ، وكل هذا يخلق ظروفاً مساعدة وظروفاً مضادة لنمو المجموعات الميكروبية المختلفة في التربة، والعلاقة بين جنسين موجودين من ميكروبات التربة تظهر في صور عديدة منها :

(أ):علاقات محايدة Neutralism

أي أن النوعين ليس لهما علاقة يبعضهما ولا يتأثر أيهما بنمو الأخر ، هذه العلاقة وإن كانت موجودة ، إلا أنها نادرة الحدوث في الوسط الطبيعي للميكروبات ، حيث أنها تحدث تحت ظروف معينة كأن يكون عدد الميكروبات في الوسط قليل، والاحتياجات الغذائية لكل نوع يختلف عن احتياجات النوع الأخر ، بالإضافة إلي الإمداد الغذائي المتوفر.

(ب) :علاقات تعاونية Beneficial relations

ومن أمثلتها:

١-المعايشة **Commensalism** أو المنفعة لطرف واحد ، وفيها أحد النوعين يستفيد من وجود النوع الأخر بينما النوع الثاني لا يستفيد منه.

٢-التنشيط **Synergism** وهي قدرة النوعين مع بعضهما على القيام بعمل أو تفاعل لم يكن أي منهما قادر على القيام به منفردًا.

٣-التعاون **Protocooperation** وفيها العلاقة بين النوعين ذات فائدة كبيرة لكل منهما ولكن غياب هذه العلاقة لا يوثر على وجودهما، أي أن التعاون ليس إجبارياً بينهما.

٤-التكافل **Symbisois** وفيها كلا النوعين يعتمد على الأخر وكل منهما يستفيد من وجود الأخر معه إجبارياً.

(ج) :علاقات تضاد Antagonistic relations

ومن أمثلتها:

١- التنافس **Competition** وفيها يتنازع النوعين على نوع محدود من الغذاء أو الأكسجين أو المكان أو أي ضرورة من ضرورات البقاء مما يؤدي إلي أن نمو أحدهما يسود على نمو الآخر.

٢-الإضرار **Amensalism** وفيها أحد النوعين يضار من وجود الأخر ولكن الأخر لا يتأثر وذلك نتيجة إفراز النوع المؤثر لمادة للنوع المتأثر أو لقيامه بتغيير ظروف الوسط.

٣-الافتراس والتطفل **Predation & Parasitism** وفيه أحد النوعين يهاجم مباشرة النوع الأخر.

ونظراً لهذه العلاقات المتعددة فأنه من الصعب نجاح تلقيح ميكروب غريب في تربة ونجاحه في الاستمرار والزيادة فيها ، وذلك لأن غياب هذا الميكروب أو وجوده بأعداد قليلة فى التربة من الأصل قبل وضعه فيها يظهر أن ظروف هذه التربة غير

ملائمة لنموه، ومن هذا يتبين أن التغيرات التى تحدث بعد إضافة نوع غريب من البكتريا أو الفطر إلى التربة تكون وقتية وعادة ما يحدث هذا النوع ويختفى بعد فترة.

أولاً: العلاقات التعاونية بين ميكروبات التربة

Beneficial associations

إن العلاقات التشجيعية أو التعاونية وهي التعايش والتنشيط والتعاون والتكافل Commensalism, Synergism, Protocooperation, Symbiosis تظهر بصورة واضحة بين ميكروبات التربة.

- **التعايش Commensalism**

من أكثر العلاقات التعاونية بين ميكروبات التربة وجودا هي تلك العلاقة بين نوعين أحدهما قادر علي مهاجمة وتحليل مادة لا يقدر الأخر علي تحليلها ، وتكون نواتج التحليل بواسطة الميكروب الأول ملائمة لتغذية الميكروب الثاني وهذه صورة من التعايش Commensalism منتشرة في التربة ، وفيها مثلا يمكن أن تتحول عديد من السكريات المعقدة إلي صورة ملائمة لتغذية بعض المجموعات الميكروبية غير المتخصصة في تحليلها للمركب المعقد ، ومن الأمثلة الواضحة لهذا قيام البكتريا والفطريات المحللة للسليولوز بتحويله إلي سكريات بسيطة أو أحماض عضوية تستخدم بواسطة الميكروبات غير المحللة للسليولوز.

والمثل الثاني من التعايش Commensalism يظهر فى حاجة عديد من ميكروبات التربة إلي مواد مساعدة للنمو وهذه المواد المساعدة للنمو تكوين ميكروبات أخرى ، ويؤدي إفرازها في الوسط إلي نمو الميكروبات المعقدة التغذية التي تحتاج هذه المواد ، وذلك كما في حالة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* التي تفرز أثناء نموها بعض المواد المساعدة علي النمو مثل الفيتامينات وحمض النيكوتينيك والبيوتين ، فتشجع نمو الميكروبات الأخرى المستفيدة مثل *Lactobacillus*, *Proteus vulgaris*.

مثال أخر قيام بعض ميكروبات التربة بتحليل السموم والمواد المثبطة للنمو التي تفرز في التربة نتيجة نشاط ميكروبات معينة، وتحليل هذه المواد يعطي المجال للميكروبات الحساسة لها لتنمو وتقوم بنشاطها.

والمثل الرابع للتعايش هو قيام الميكروبات الهوائية بالنمو واستهلاك الأكسجين مما يسمح للميكروبات اللاهوائية بالنمو بسهولة بعد ذلك.

الكائنات المستفيدة قد توجد خارج العائل Ecto-commensals ، كما في حالة البكتريا التي تحيط بأسطح هيفات الفطر وخيوط الطحالب حيث تستفيد من إفرازات العائل ، أو قد توجد داخل العائل وتسمي Endo-commensals كما في حالة البكتريا التي تعيش داخل الجهاز الهضمي للكائنات البحرية والفقاريات الأرضية.

- **التنشيط Synergism**

ومن صور العلاقات التعاونية بين الميكروبات التي توضح معني التنشيط Synergism مالوحظ من أن تحليل بعض المركبات الطبيعية يكون أسرع في المزارع المختلطة عن المزارع الميكروبية النقية ، وقد يعزي زيادة النشاط في المزارع المختلطة لقدرة أحد الميكروبين علي التخلص من نواتج التخمر التي قد تؤثر علي نمو الميكروب الأخر أو أن أحد الميكروبين ينتج مواداً مشجعة لنمو النوع الأخر، وعموما فإن هذا النوع من التعاون غير نادر الحدوث في التربة وإذا كان هذا النوع من التعاون شديد وواضح ، فقد يطلق عليه اصطلاح التكافل الغذائى Nutritional symbiosis ، وقد لوحظ هذا النوع من التعاون بين مزرعتين أو ثلاثة مزارع مع بعضهم في مزارع مختلطة ، فمثلا في بيئة خالية من الـ Folic acid, Phenylalanine فإن *Streptococcus faecalis*, يحتاج إلى Phenylalanine وينتج Folic acid و*Lactobacillus arabinosus* يحتاج إلي Folic acid وينتج Phenylalanine ، وعلي ذلك ففي المزرعة المختلطة فإن الاثنين يستطيعان النمو في نفس البيئة الخالية من المادتين حيث تمثل كل من المزرعتين المادة الناقصة للمزرعة الثانية ، ومثل هذه العلاقة الغذائية

لوحظت في التربة بين عديد من الفطريات والبكتريا حيث يعاون كل منهم الأخر في الإمداد باحتياجاته من الأحماض الأمينية والفيتامينات ، وهذه الحالة تفسر وجود هذا النوع من التعاون بين بعض الميكروبات ، وفي التربة فإن كثيرا من ميكروبات التربة الأصلية تتطلب أو يشجع نموها بعض الفيتامينات التابعة لمجموعة B وبعض الأحماض الأمينية ، وعلي ذلك فإنها لا تنمو في البيئة البسيطة مالم تضاف لها المواد المطلوبة للنمو ، ووجود هذه الميكروبات التي لها احتياجات غذائية محدودة في الطبيعة يتطلب إمدادها باستمرار بهذه الاحتياجات ، ووجود هذه الميكروبات في التربة باستمرار معناه أن هذه المواد موجودة في التربة نتيجة النشاط الميكروبى .

ومن أمثلة التنشيط الواضحة مالوحظ من أن إحدي سلالات *Rhodopseudomonas* لا تستطيع تثبيت الأزوت الجوي في المزرعة النقية في بيئة Glycerol or Starch medium ، ولكنها تثبت كميات لا بأس بها من النيتروجين الجوي عندما تنمو في مزرعة مختلطة مع *Bacillus megaterium* أو *B. subtilis* ، ويوجد أمثلة شبيهة لهذا المثل مع ميكروبات أخرى. كما أن البكتريا اللاهوائية الممثلة للضوء تزداد كفاءتها في تثبيت الأزوت في وجودها مع مزارع خليطة من الميكروبات الهتيروتروفية.

- **التعاون Protocooperation**

التعاون Protocooperation له أهمية خاصة في تثبيت الأزوت الجوي بواسطة الأزوتوباكتر ، فهذا الميكروب يثبت الأزوت الجوي ولكنه يحتاج إلي مصادر كربون عضوية سهلة ، وعلي ذلك ففي وجود مادة كربوهيدراتية معقدة مثل السليولوز فإن الأزوتوباكتر يمكنه فقط تثبيت الأزوت الجوي خلال وجوده مع البكتريا المحللة للسليولوز القادرة علي تحويل السليولوز إلي سكريات بسيطة وأحماض عضوية وبالمثل في حالة وجود النشا والمواد الكربوهيدراتية الأخرى التي لا تستطيع الأزوتوباكتر تمثيلها ، وقد تعيش الأزوتوباكتر في معيشة تعاونية أيضا مع الطحالب التي تمد الأزوتوباكتر بما يلزمها من الكربوهيدرات التي تمثلها في عملية التمثيل الضوئى من CO_2 .

ومن أمثلة العلاقات التعاونية بين البكتريا والطحالب ما لوحظ من أن الـ ***Streptomyces*** يشجع نمو طحلب الـ ***Chlamydomonas*** ، ونمو هذه الطحالب يشجع نمو الـ ***Streptomyces*** ، ولقد فسر هذا التشجيع المتبادل نتيجة لتبادل O_2 , CO_2 بين الكائنين كما أن الـ ***Streptomyces*** يمد الطحلب بنتروجين في صورة ذائبة وتحلل السكريات المعقدة التي يفرزها الطحلب في الوسط مما يساعد علي حركة الطحلب.

كما لاحظ بعض الباحثين أن تثبيت الأزوت الجوي بواسطة الطحالب الخضراء المزرقة يشجعه وجود أنواع من البكتريا تعيش في الـ **Sheath** لهذه الطحالب .

- **التكافل Symbiosis**

ومن الأمثلة الهامة للتكافل **Symbiosis** بين الأحياء في التربة ، معيشة تبادل المنفعة بين الميكروبات والنباتات ، كما في حالة معيشة تبادل المنفعة بين البكتريا العقدية والنباتات البقولية وغير البقولية وكما هو معروف لا يستطيع أى من النبات أو البكتريا تثبيت الأزوت الجوي في الحالة الحرة ولكن التثبيت يتم فقط خلال معيشة تبادل المنفعة ، ومن صور تبادل المنفعة بين النباتات والفطريات هي قيام فطريات **Mycorrhizeaee** بعمل الشعيرات الجذرية علي جذور بعض النباتات فتساعدها علي امتصاص الغذاء والماء وفي نفس الوقت يأخذ الفطر احتياجاته الغذائية من النبات، ومن صور هذا التكافل أيضا نبات الأزولا وفيه يحدث تكافل بين سرخس وطحلب وكذلك الأشنات التي يكون التكافل فيه بين فطر وطحلب.

بالإضافة إلي العلاقات التعاونية السابق ذكرها بين ميكروبات التربة وبعضها ، وبينها وبين النباتات ، فإنه توجد علاقات تعاون أيضاً بين الميكروبات والحيوان.

ولقد وجد أن كثير من الأسماك التي تعيش في البحار العميقة والتي تعرف بالأسماك المضيئة لها إضاءة معينة تعرف باسم **Luminous organs** تعيش عليها البكتريا المضيئة، هذه البكتريا تتعايش مع تلك الأسماك تعاونياً وبواسطتها تتم عملية الإضاءة الحيوية.

يتم هضم السليولوز في الحيوانات المجترة بواسطة البكتريا المحللة للسليولوز والتي توجد في معدة هذه الحيوانات وتتعايش معها تعاونيا . ونتيجة لتحلل السليولوز ميكروبيا وهو مادة صعبة الهضم فإن الحيوان يحصل علي ما يحتاجه من عناصر غذائية.

يعيش في الأمعاء الغليظة للإنسان حوالى ٧٠ نوعاً من البكتريا تكون ما يعرف بالفلورا المعوية **Intestinal flora** وهذه البكتريا تعيش تعاونيا بالأمعاء حيث تقوم بتحليل الغذاء الذي هضم جزئيا وتنتج أثناء قيامها بعملياتها الحيوية عناصر غذائية وفيتامينات تمتص خلال جدار الأمعاء.

ثانياً: العلاقات التنافسية بين ميكروبات التربة

Competition associations

أظهرت الدراسات أنه عند تلقيح ميكروب في تربة معقمة فإنه ينمو بسرعة ويصل إلي أعداد كبيرة ، بينما إذا أجرى التلقيح في تربة غير معقمة فإن نمو الميكروب يكون بطيئا وقد يختفي الميكروب ثانية من التربة بعد أيام أو أسابيع ، وهذا ناتج من التأثيرات الضارة لميكروبات التربة علي الميكروب الملقح، ووجود تأثير ضار لنوع من الميكروبات علي الأنواع المجاورة ظاهرة منتشرة في التربة وتظهر بوضوح في نقص الأعداد أو النشاط للميكروبات الحساسة، والعلاقات الضارة أو التنافسية بين نوعين من الميكروبات في التربة عديدة مما يؤدي إلي وجود تنافس دائم علي البقاء وتبقي في الوسط الميكروبات الأقدر علي التأقلم لهذه الظروف المحيطة.

وقد يحدث التنافس بين كائنات من أنواع مختلفة ويسمي هذا التنافس **Interspecific competition** أو قد يحدث بين كائنات من نفس النوع ويسمي في هذه الحالة **Intraspecific competition** ، وتختلف الكائنات في قدرتها علي التنافس حيث تزداد قدرة الميكروب علي التنافس إذا ما توفرت له واحد أو أكثر من العوامل التالية :

١. المعدل الأسرع في النمو.
٢. القدرة علي تحمل الظروف البيئية المتغيرة من حرارة ورطوبة و pH.
٣. القدرة علي تمثيل وتخزين المواد الغذائية والعوامل المشجعة علي النمو.
٤. القدرة علي التحرك من موقع غير مناسب إلي أخر مناسب، وفي هذا الخصوص فإن الميكروبات المتحركة أو التي لها خيوط طويلة فان قدرتها أكبر علي التنافس.

وصور التنافس الميكروبى يمكن تلخيصها فيما يلي :

أ) التنافس بين الأنواع علي كمية محدودة من الغذاء أو الأكسجين أو الموقع الدقيق .

ب) إنتاج نوع من الميكروبات لمواد سامة تثبط نمو الأنواع الأخرى.

من ناحية التنافس علي الغذاء فإنه عادة ما تكون كمية مادة مغذية ما قليلة في التربة لذلك تظهر صور التنافس ، مثل التنافس علي مصادر الكربون والعناصر المعدنية أو الأكسجين.

ولقد درست العلاقة التنافسية بين ميكروبات التربة تحت ظروف المعمل باستخدام فطر *Fusarium oxysporum* كميكروب اختبار **Test organism** ولقد أظهرت الدراسة أن كثيرا من بكتريا التربة تحبط نمو هذا الفطر ، ولقد لوحظ أن الميكانيكية الأساسية لإحباط نمو الفطر هي التنافس علي الغذاء وخصوصاً علي مصدر النيتروجين حيث أمكن تلافي التأثير المثبط بإضافة مصدر نيتروجيني مثل النترات .

أما من ناحية التنافس علي مصدر الكربون في التربة فإن لذلك أهمية خاصة ، ولقد تبين أن قدرة ميكروب ما علي التنافس في التربة يتحكم فيها أولاً قدرة الميكروب علي استخدام مصادر الكربون الموجودة في التربة ، ومعدل نمو الميكروب ومدى التعقد في احتياجاته الغذائية وعادة فإن الميكروبات البسيطة التغذية خاصة لنموها تستفيد من هذه الخاصية في ظروف التنافس ، ولو أن وجود الفيتامينات وعناصر النمو في التربة تعطي الفرصة للميكروبات معقدة التغذية في أن تنافسها .

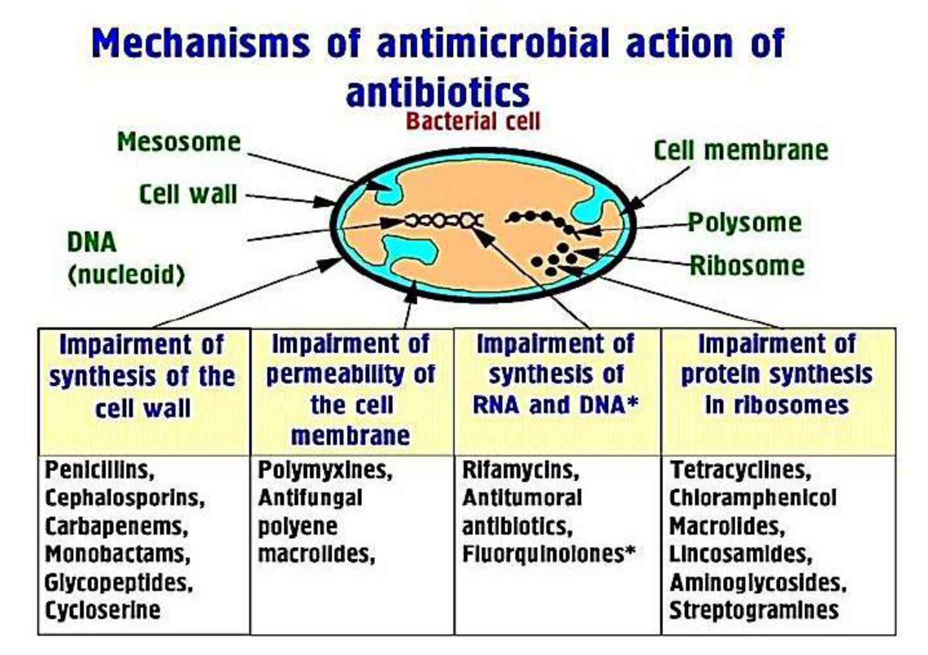
من ناحية المواد المثبطة للنمو فإن بعض الكائنات المجهرية تنتج أحماضاً أثناء نشاطها الغذائى مثل حمض الكربونيك والكبريتيك والنيتريك وهذه تؤثر علي الميكروبات الحساسة للحموضة .

كما أن بعض الميكروبات تفرز مواداً سامة للكائنات الأخرى منها ما يوقف نمو البكتريا **Bacteriostatic** أو يقتلها **Bactericidal** . ومن هذه السموم ما تفرزه الطحالب المزرقة والذهبية وتسمي **Phytotoxins** تنتشر في الوسط مسببة موت الأصداف والأسماك والطيور والثدييات ، كما أن بعض الفطريات تفرز سموما فطرية **Mycotoxins** مثل الأفلاتوكسين **Aflatoxin** الذي تفرزه بعض الفطريات التي من أهمها فطر ***Aspergillus flavus*** النامي علي البذور خاصة حبوب الفول السوداني ولهذا السم تأثيره الضار علي الطيور والحيوان والإنسان، ومن المواد الهامة التي تفرزها ميكروبات التربة أيضاً المضادات الحيوية .

- **إنتاج المضادات الحيوية Production of Antibiotics**

يلاحظ عادة أن تلقيح طبق بترى يحتوى علي بيئة غذائية بمعلق تربة يؤدي إلي نمو عديد من الفطريات والبكتريا والأكتينوميسيتات متجاورة في الطبق ، وبعض المستعمرات يلاحظ أنها تحاط بمنطقة خالية من أى نموات لأى ميكروبات أخرى. وظهور هذه المناطق الخالية من النمو تعتبر تأكيدا علي أن هذا الميكروب يفرز مضادات حيوية ، ويعرف المضاد الحيوي **Antibiotic** بأنه مادة يفرزها كائن يمكنها في تركيزات مخففة أن تحبط نمو كائن حي أخر، ويمكن التأكد من قدرة ميكروب علي إفراز المضاد الحيوي بعمل تخطيط لطبق من الأجار المغذى بهذا الميكروب ثم بعد يومين أو ثلاثة أيام يلقح ميكروب أخر حساس في نفس الطبق في خطوط متقاطعة مع خطوط تلقيح الميكروب الأول ، وبعد فترة تحضين ملائمة يشاهد تأثير المضاد الحيوي علي الميكروب النامي ، وكثير من ميكروبات التربة يمكنها أن تنتج مواداً محبطة لنمو ميكروبات أخرى ، ولقد أوضحت العديد من الدراسات أن العديد من البكتريا والفطريات والأكتينوبكتريا يمكنها إفراز المضادات الحيوية وتعتبر الأكتينوبكتريا أكثرها نشاطاً في هذا الخصوص وتعتبر المضادات

Streptomycin, Chlortetracycline, Chloramphenicol أمثلة من المضادات الحيوية ذات القيمة العلاجية التي تفرزها الأكتينوبكتريا ، ومن بين الأجناس التابعة لمجموعة الأكتينوبكتريا يعتبر جنس *Streptomyces* أكثرها قدرة علي إفراز المضادات الحيوية ومع ذلك فإن بعض سلالات الـ *Micromonospora* and *Nocardia* تستطيع أيضاً إنتاج المضادات الحيوية، أما أكثر مجموعات البكتريا قدرة علي إفراز المضادات الحيوية فهي البكتريا الهوائية المتجرثمة التابعة لجنس *Bacillus* وبعض سلالات من أنواع تابعة لجنس *Pseudomonas* ومن الفطريات المنتجة أنواع تابعة لأجناس *Trichoderma*, *Aspergillus* and *Fusarium* ، ومن الصعب تحديد أعداد الميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية حيث يختلف أعدادها من تربة إلي أخرى ، كما تختلف نتائج التقدير حسب نوع الميكروب الحساس المستخدم في اختبار إنتاج المضادات الحيوية ، كما أن بعض الميكروبات يمكن أن تنتج أكثر من نوع من المضادات الحيوية لها تأثيرات مختلفة علي أنواع مختلفة من الميكروبات.



Impairment of synthesis of the cell wall	Impairment of permeability of the cell membrane	Impairment of synthesis of RNA and DNA*	Impairment of protein synthesis in ribosomes
Penicillins, Cephalosporins, Carbapenems, Monobactams, Glycopeptides, Cycloserine	Polymyxines, Antifungal polyene macrolides,	Rifamycins, Antitumoral antibiotics, Fluorquinolones*	Tetracyclines, Chloramphenicol Macrolides, Lincosamides, Aminoglycosides, Streptogramines

شكل٥(٣)١: ميكانيكيات تأثير المضادات الحيوية

ومع أن أعداد الميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية في التربة كبير فإن دورها في الاتزان الميكروبى وأهميتها في تحديد الأنواع السائدة في التربة غير معروف جيدا ، ومع ذلك فهناك من الشواهد ما يبين أهمية الميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية في التربة منها :

١- وجود أعداد كبيرة من الميكروبات في التربة لها القدرة علي إحباط نمو ميكروبات أخرى عند اختبارها في المعمل.

٢- أن فطريات التربة الأصلية تقاوم فعل المضادات الحيوية عن الفطريات الخارجية.

٣- زيادة إفراز المضادات الحيوية عند إضافة المواد العضوية للتربة وفي نفس الوقت فإن إضافة المضادات الحيوية للتربة يعتبر أحد الوسائل المستخدمة في مقاومة أمراض النبات.

ويرى بعض العلماء أن الانتشار الواسع للميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية في التربة أدي إلي إعطائها أهمية أكبر من اللازم من الناحية البيئية ولكن بالدراسة الدقيقة لم يمكن بيان صورة واضحة لدورها ، والعلماء الذين يعارضون الأهمية الكبيرة للمضادات الحيوية في التوازن الميكروبى في التربة يبنون رأيهم علي جملة نقاط هي:

١- لم توجد شواهد تثبت أن قدرة الميكروب علي إفراز المضاد الحيوي يزيد من قدرة هذا الميكروب علي المنافسة والتواجد وأن الميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية ليست أكثر تواجدا من الميكروبات غير المنتجة للمضادات الحيوية.

٢- لم يمكن إيجاد علاقة بين الميكروبات التي توجد بأعداد كبيرة في التربة وحساسيتها أو مقاومتها للمضادات الحيوية بل لقد ثبت في كثير من الأحوال أن أكثر الميكروبات وجودا في التربة هي الحساسة للمضادات الحيوية.

٣-أنه عند تلقيح ميكروب غريب في التربة فإن اختفاؤه لا يرتبط بتكوين مواد مضادة لهذا الميكروب وأن ميكانيكية التخلص من الميكروب الغريب يتم بطرق أخرى خلاف المضادات الحيوية.

٤- أنه بتلقيح الميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية في التربة لم يمكن ملاحظة تراكم هذه المضادات في التربة.
٥- أن المضادات الحيوية لو أضيفت للتربة أو تكونت فيها فإنها تفقد نشاطها بسرعة عن طريق إدمصاصها أو نتيجة تفاعلات كيميائية أو تحللها ميكروبياً.
٦- إن التقديرات الدقيقة لم تثبت وجود المضادات الحيوية بنسب عالية في التربة.

وبالرغم من هذه الأراء المتعارضة عن الأهمية الخاصة للميكروبات المفرزة للمضادات الحيوية في التربة فإن أحدا لم يستبعد أن لهذه الميكروبات أهمية في النواحي الايكولوجية ، وأن المضادات الحيوية قد تكون لها قوة كبيرة في مناطق محدودة وهي المناطق التي تحيط بالميكروب المفرز للمضادات الحيوية ، وهذه المواد السامة يمكن أن تلعب دورا في مناطق معينة تكون فيها الظروف مواتية لإنتاج هذه المضادات وتكون مادة التفاعل بكمية كافية ، وأنه بالرغم من سرعة ضياع قوة المضاد الحيوي في التربة فإن المنطقة الملاصقة للميكروب المفرز يمكن أن يكون فيها تركيز المضاد الحيوي مؤثرا ، ولكن طرق التقدير المتاحة حاليا ليست ملائمة لتقدير هذه القوة.

- الافتراس **Predation**

يقوم المفترس **Predator** بالتغذى علي الفريسة **Prey** مسببا موتها ، وعادة ما تكون الفريسة أصغر حجما وأكثر عددا من المفترس ، ويطلق علي هذا النوع من التغذية اسم **Phagotrophic feeding** .

من الميكروبات المفترسة **Protozoa, Myxomycetes and Myxobacteria** ويلاحظ أن كلا من البروتوزوا والفطريات اللزجة والميكسوبكتريا واسعة الانتشار في التربة.

تعتبر البكتريا أكثر الأحياء الدقيقة الموجودة تعرضا للافتراس ، ومن أكثر الأحياء قدرة علي افتراس البكتريا البروتوزوا ، وهذه بتغذيتها علي الملايين من البكتريا يمكن أن تؤثر علي التوازن البيولوجي ، حيث لوحظ مثلا أنه في التربة المسمدة تسميدا عضوياً جيدا فإن هناك علاقة عكسية بين أعداد البكتريا

والبروتوزوا ، ولكن عموماً فإن أثر ذلك علي البكتريا لا يصل إلي درجة خطيرة حيث أن أعداد البروتوزوا أيضا تتحكم فيها الاتزان البيولوجي .

من ملتهمات البكتريا أيضاً الفطريات اللزجة حيث تتغذى عليها مباشرة مؤثرة فى أعدادها حيث أن لهذه الفطريات مرحلة من النمو تشبه فيها الأميبا.

يكثر وجود الميكسوبكتريا في أكوام السماد وبقايا الإسطبلات وروث الحيوانات حيث أن أعداد البكتريا فيها كبير جداً ، وبذلك تسنح الفرصة لزيادة أعداد الميكسوبكتريا في هذه المصادر بالتغذى علي البكتريا ، والميكسوبكتريا تذيب خلايا البكتريا أولاً بما تفرزه من إنزيمات محللة خارجية ثم تمتص المواد المذابة للتغذية عليها .

والقدرة علي تحليل **Lysis** الميكروبات ليست محدودة في الـ **Myxobacteria** وإن تغذية البكتريا علي هيفات الفطريات ظاهرة معروفة ولقد أمكن مشاهدتها كثيرا في الشرائح المطمورة **Buried slide technique** ، وقدرة البكتريا علي تحليل الفطريات يمكن أن تكون أحد العوامل المؤثرة علي انتشار الفطريات في التربة ، فكثير من الميكروبات التابعة لجنس ***Bacillus*** مثل ***B. pumilis*** يمكن أن تفرز إنزيمات خارجية قادرة علي تحليل ميسيليوم الفطريات وهضمها ، وهذه الظاهرة أيضاً شوهدت بين أنواع من ***Streptomyces*** .

وظاهرة تحلل الخلايا الميكروبية **Lysis** ظاهرة واسعة الانتشار ويعود ذلك التحلل في الأراضى إلي :

١- التحلل المختلط **Heterolysis** وفيه تتحلل جدر الخلايا أو الهيفات بواسطة إنزيمات خارجية تفرزها الكائنات المهاجمة ، والخلايا التي تحللت جدرها تصبح غير قادرة علي المحافظة علي مكوناتها وتفقد حيويتها وتموت.

٢- التحلل الذاتي **Autolysis** وفيه يحدث تحلل ذاتي للخلية الميكروبية أو الهيفات بواسطة إنزيمات تفرزها الخلية بنفسها أو تتحلل الخلايا ذاتياً بسبب نقص التغذية.

وتتعـرض مجموعـة كبيـرة مـن الفطريـات للتحلـل مـن النـوع المخـتلط Heterolysis بواسطة الإنزيمات التي تفرزها بعض أنواع البكتريا والأكتينوبكتريا مثل *Bacillus, Pseudomonas, Nocardia and Streptomyces* ، والتحلل ليس مقصورا فقط علي الهيفات بل يمتد إلي الجراثيم اللاجنسية كالجراثيم الكونيدية والإسبورانجية وإن كان تحللها يكون بدرجة أبطأ من تحلل الهيفا.

وتتميز الكائنات المهاجمة بقدرتها علي إفراز إنزيمات خاصة بتحليل جدر الخلايا التي تهاجمها ، ومن هذه الإنزيمات Cellulase, Chitinase, Peptidoglucan hydrolyzing enzymes التي تحلل السليولوز والكيتين الموجود في جدر الفطريات ، وكذلك طبقة الميورين الموجودة في جدر البكتريا والطحالب الخضراء المزرقة.

بعض أنواع البكتريا تقاوم عملية الافتراس بما تفرزه من مواد لزجة أو بما تكونه من كبسولة كبيرة أو بتركيزات معينة في جدر خلاياها أو بما تفرزه من توكسينات أو من صبغات كما في حالة البكتريا الملونة *Serratia, Chromobacterium* مما يصعب عملية الافتراس أو قد يعيقها تماماً ، لذلك نجد أن الكائنات المفترسة تختار ما تفترسه من أنواع معينة.

ويتوقف معدل الافتراس علي نوع المفترس والفريسة والظروف البيئية المحيطة ومن التجارب المعملية وجد أن البروتوزوا يلزمها في كل دورة انقسام لها أن تلتهم حوالى ٤٠ ألف خلية بكتيرية.

- **التطفل Parasitism**

الطفيل Parasite كائن يتغذى علي خلية أو نسيج عائل أخر عادة أكبر منه حجما مسبباً له الضرر ، والتطفل حالة تميز معيشة بعض أنواع من البكتريا والفطريات والبروتوزوا بالإضافة إلي الفيروسات ، وقد يكون التطفل إختيارى Facultative حيث يستطيع الكائن أن ينمو مستقلاً أو متطفلاً ، أو قد يكون إجباري Obligate حيث لا ينمو الكائن إلا علي العائل الحي كما في بكتريوفاج البكتريا ومن المعروف أن لكل مجموعة بكتيرية الفيروس الخاص بها (البكتريوفاج ،

الأكتينوفاج ، السيانوفاج) ، وفي بعض الأحوال فإن الفاج يلعب دورا في تحديد أعداد الميكروب الحساس له ، ومن المعروف أن لكل ميكروب فيروس خاص به فإذا وجد الفيروس المتخصص في التربة فإنه يغزو خلايا العائل ويتكاثر داخله ليكون أعدادا كبيرة من الفيروس ثم تتحلل خلايا الميكروب المصاب ويغزو الفيروس غيرها، وقد تؤدي الإصابة بالفيروس إلي تقليل واختفاء نوع معين كما لوحظ من بعض الدراسات أن سبب عدم تكون العقد الجذرية علي بعض النباتات البقولية هو إصابة البكتريا العقدية بالفيروس ويتناقص عددها تبعا لذلك.

كما يتطفل علي البكتريا أيضا بكتريا واوية Vibrio منها *Bdellovibrio bacteriovorus* ورغم أن وجودها بالأراضى غير شائع ، إلا أن لوجودها أهمية كبيرة ، إذ أنها متطفلة إجبارا علي خلايا البكتريا الأخرى الأكبر حجما السالبة لجرام مثل *Proteus, Enterobacter, Pseudomonas, E. coli and Rhizobium* وبذلك فإنها تحد من انتشارها وفي مرحلة التطفل فإنها تلتصق بسطح العائل ثم تنفذ من جدار الخلية وتسكن بين الجدار والغشاء السيتوبلازمي ثم تتكاثر علي حساب الخلية وتكون عدة أجيال في خلال ساعات ، ثم تتحلل خلية العائل وتخرج منها لتهاجم خلايا أخرى.

ولقد أمكن مشاهدة قدرة بعض الفطريات علي التطفل علي فطريات أخرى مما يؤدي لاختفاء الفطر المصاب من التربة ، ويظهر التطفل باختراق هيفات الطفيل لهيفات العائل أو بالتفافها حولها ، كما شوهد بعض الفطريات القادرة علي الالتفاف حول النيماتودا أو البروتوزوا والإمساك بها ثم اختراق هيفات الفطر لها والتغذى عليها .

المراجع العربية

- أسس علم الأحياء الدقيقة (٢٠٠٨): رضا احمد عبد المجيد بيومى- مكتبة الأنجلو المصرية.
- عالم البكتريا (٢٠٠٥) : محمد الصاوى محمد مبارك ، عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، راوية فتحى جمال - مكتبة أوزوريس.
- مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة (١٩٨٢): محمد منيب، نبيل إبراهيم حجازي ، إسماعيل حسني علي حسني – مراجعة: سعد على زكى محمود، عبد الوهاب محمد عبد الحافظ – مطابع الأهرام التجارية – القاهرة – جمهورية مصر العربية.
- ميكروبيولوجيا الأراضى (٢٠٠٤): سعد على زكى محمود ، عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، محمد الصاوى محمد مبارك- مكتبة الأنجلو المصرية.
- الميكروبيولوجيا التطبيقية (١٩٩٦) : سعد على زكى محمود ،عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، محمد الصاوى محمد مبارك - المكتبة الأكاديمية.
- الميكروبيولوجيا التطبيقية العملية (١٩٨٨) سعد على زكى محمود- مكتبة الأنجلو المصرية.

المراجع الإنجليزية

- Alexander, Martin (1980): Introduction to soil Microbiology, John Wiley & Sons.
- David, P. (2004): Microbial Ecology of the soil and plant growth. Science Publishers, Inc, U.S.A.
- Elias, J.D.V., J.K. Jansson and J.T. Trevors (2007): Modern Soil Microbiology. CRC Press. Taylor.
- Mahmoud, S.A.Z.; A.M. Abdel-Hafez; M. EL-Sawy and Ehsan A.Hanafy (1973 to 1976): Series of papers on phosphate dissolvers in Egyptian soils. Agrokemia Es. Talajten , Budapest, Hungary, 22,351-368,1973. Zbi. Bakt.Abt. 11, 128,196-202 and 524-531,1973. Egypt.J.Botany, 18,101-114,1975. Egypt.J.Soil Sci,16,9-20,1976.
- Subba Rao, N. S. (1999): Soil microbiology ,Science Publishers, INC. U.S.A.
- Taha,S.M.;S.A.Z. Mohamoud;A.H. EL-Damaty and Abdel-Hafez (1969): Activity of phosphate dissolving bacteria in Egyptian soils, plant and soil, 31,149-160.

المؤلفان في سطور

راشد عبدالفتاح زغلول ، من مواليد محافظة القليوبية عام١٩٦٤م ، حصل على دكتوراه فلسفة العلوم الزراعية "ميكروبيولوجيا زراعية "عام١٩٩٣م من جامعة الزقازيق – فرع بنها ، تدرج فى وظائف هيئة التدريس بالجامعة إلى أن أصبح أستاذ لعلم الميكروبيولوجى بكلية الزراعة جامعة بنها عام ٢٠٠٥ م، عمل محاضرا فى الجامعات المصرية وشارك فى الإشراف على ٤٥ رسالة ماجستير ودكتوراه ، وله ٦٧ بحثاً منشوراً فى مجالات الميكروبيولوجيا المختلفة، عضو فى عدة جمعيات علمية منها "الميكروبيولوجيا التطبيقية و"النباتية المصرية" و"النباتية التطبيقية"، عضو محكم فى عدة لجان علمية بالمركز القومي للبحوث ومركز بحوث الصحراء ، عضو اللجنة العلمية الدائمة بالمجلس الأعلى للجامعات (الكيمياء الحيوية –الميكروبيولوجيا – الوراثة) ٢٠١٣– ٢٠١٦لترقية الأساتذة والأساتذة المساعدين ، من مؤلفاته كتب أساسيات الميكروبيولوجيا الزراعية، الكائنات الحية الدقيقة في خدمة الإنسان ، أسس ومقومات الزراعة العضوية ، تدوير المخلفات والاستفادة منها، الميكروبيولوجيا التطبيقية، التلوث البيئي مشكلات وحلول.

حامد السيد أبوعلى ، من مواليد المنصورة عام ١٩٦٥ م ، حصل على دكتوراه فلسفة العلوم الزراعية "ميكروبيولوجيا زراعية" ١٩٩٦ م من جامعة الزقازيق فرع بنها، تدرج فى وظائف هيئة التدريس الى أن أصبح أستاذ الميكروبيولوجيا الزراعية بكلية الزراعة جامعة بنها منذ ٢٠٠٩ م وحتى الآن. شارك فى الإشراف على ٣٠ رسالة ماجستير ودكتوراه ، وناقش العديد من الرسائل العلمية فى مجال التخصص داخل وخارج الكلية، وله أكثر من ٥٠ بحثاً منشورا فى مجالات الميكروبيولوجيا الزراعية المختلفة، شارك فى العديد من الندوات والمؤتمرات العلمية المتخصصة فى مجال لميكروبيولوجيا الزراعية، عضو في عدة جمعيات علمية منها "الميكروبيولوجيا التطبيقية" و"الكيمياء الزراعية وحماية البيئة" و"النباتية المصرية" و"النباتية التطبيقية"، عضو لجان التحكيم فى اللجنة العلمية الدائمة (الكيمياء والميكروبيولوجيا الزراعية والوراثة) لترقية الأساتذة والأساتذة المساعدين من ٢٠١٢ وحتى الأن ، عضو لجان تحكيم الترقية بالهيئة القومية للرقابة والبحوث الدوائية، من مؤلفاته كتاب "أساسيات الميكروبيولوجيا الزراعية".